

THESIS

MÜNICH

1966

**Das Verhalten des Cholesterins
und seiner Ester in Serum
und Leber der Ratte bei experimenteller
Leberschädigung und Leberregeneration
(sowie Untersuchungen an einigen
pathologischen menschlichen Lebern)**

Rolf Wittorf

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153723_0212

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

DAS VERHALTEN DES CHOLESTERINS UND SEINER
ESTER IN SERUM UND LEBER DER RATTE BEI
EXPERIMENTELLER LEBERSCHÄDIGUNG UND LEBER-
REGENERATION (SOWIE UNTERSUCHUNGEN AN
EINIGEN PATHOLOGISCHEN MENSCHLICHEN LEBERN).

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

R O L F W I T T O R F
aus Lübeck

München 1966

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. N. Zöllner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. Seitz
Dekan:	Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 12. 1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung.....	5
Material und Methodik.....	10
Ergebnisse.....	17
1. Tetrachlorkohlenstoff-Versuche.....	17
Diskussion.....	22
2. Teilhepatektomieversuche.....	29
Diskussion.....	33
3. Untersuchungen an menschlichen Lebern.....	37
Diskussion.....	38
4. Tabellen und Abbildungen.....	41
Zusammenfassung.....	60
Literaturnachweis.....	61
Lebenslauf.....	73

E I N L E I T U N G

Die zentrale Stellung der Leber im Lipoidstoffwechsel ist heute allgemein anerkannt (66). Es darf als gesichert gelten, daß die Leber den wesentlichen Ort für die Bildung und Regulation der Blutplasmalipide Cholesterin, Phospholipide und Neutralfette darstellt (66,68,30,32). Diese Lipide liegen aber im Blutplasma nicht in freier Form vor, sondern sie sind mit Eiweißkörpern zu Lipoid-Protein-Komplexen verbunden (62, 96). Auch für die Synthese der Proteinkomponente und die Koppelung zum Lipoproteid ist die Leberzelle verantwortlich (68,30,53).

Das Plasmacholesterin setzt sich zusammen aus dem freien Alkohol und dem mit verschiedenen Fettsäuren veresterten Cholesterin. Der veresterte Anteil macht etwa 70 % des Gesamtcholesterins aus (104): Dieses recht konstante Verhältnis wird als Esterquotient bezeichnet.

Die Plasmacholesterinester besitzen besondere Bedeutung für den Fettstoffwechsel. Sie sind die wesentlichen Träger der biologisch wichtigen (106) mehrfach ungesättigten Fettsäuren (47), und zwar der Linolsäure (18 C-Atome : 2 Doppelbindungen, Hauptfettsäure in den menschlichen Plasmaestern) und der Arachidonsäure (20 : 4, Hauptfettsäure der Rattenester). Es besteht heute auf Grund von Isotopenversuchen kein Zweifel mehr daran, daß die Linolsäure zumindest von der Ratte, wohl aber auch vom Menschen (106) nicht zu synthetisieren ist (55). Die Arachidonsäure und andere Polyenfettsäuren können dagegen in der Leber, wie schon 1938 von NUNN et al. gezeigt (59) und später durch Versuche mit markiertem Acetat bewiesen wurde (54,42,43), aus der "essentiellen", exogen zuzuführenden Linolsäure gebildet werden, und zwar durch Anfügen eines Acetatrestes am Carboxylende, unter Beibehaltung des "Linolsäuretypus" der Kette (42,43). Über die Herkunft der Träger dieser mehrfach ungesättigten Fettsäuren, eben der Cholesterinester, ist viel geforscht worden, bis die Bedeutung der Leber als wichtigster Ort der Cholesterinveresterung und wohl einzige Quelle der Plasmaester gesichert war

W.M. SPERRY (81) beschrieb 1941 als erster ein Cholesterin veresterndes System in der Leber, NIEFT u. DEUEL (1949) (57) sowie BYRON et al. (1953) (8) bestätigten die Existenz einer Leber-Cholesterin-Esterase. Daß andererseits auch die Dünndarmschleimhaut zur Cholesterinveresterung befähigt ist und diese Ester via Darmlymphe abtransportiert werden, ist seit FRÖLICHER und SÜLLMANN (1934) (23) bekannt; Cholesterin-esterase in der Dünndarmmucosa wurde von NIEFT (1949) (57) und SWELL (1950) (85) durch in-vitro-Versuche nachgewiesen. Den in-vivo-Beweis dieses intestinalen Veresterungsprozesses und des Transportes der gebildeten Ester auf dem Lymphweg erbrachten CHAIKOFF et al. (9) durch Verfütterung von markiertem Cholesterin an Ratten mit Lymphfisteln: Ca. 50 % des resorbierten markierten Cholesterins wurde nach der Darmwandpassage verestert in der Lymphe wiedergefunden. Daß die Darmveresterung, der lange Zeit große Bedeutung für die physiologische Regulation des Plasmaesterspiegels beigemessen wurde (86), diese Regulationsprozesse tatsächlich nicht beeinflusst, und die Leber die einzige für den Serumspiegel bedeutsame Quelle dieser Verbindungen darstellt, ist experimentell belegt. M. FRIEDMANN (22) konnte an Ratten, denen Magen-Darm, Pankreas und Milz exstirpiert waren, nach experimenteller Reduktion des Plasmaestercholesterins mittels Plasmapherese zeigen, daß der Esterersatz im Plasma mit gleicher Geschwindigkeit abläuft wie bei normalen Ratten. Subtotal hepatektomierte Ratten dagegen konnten nach der Esterreduktion, auch trotz zusätzlich durch Injektion angebotenen freien Cholesterin, den Esterverlust nicht ersetzen. Ebenso war das hepatektomierte Tier außerstande, überschüssiges, injiziertes Estercholesterin aus dem Plasma zu eliminieren, ein Vorgang, der bei den eviscerierten Tieren völlig normal verläuft. M. FRIEDMANN schließt aus seinen Untersuchungen, daß für die Regulation der Plasmacholesterinester völlige Unabhängigkeit von der intestinalen Veresterungsfähigkeit besteht und die Leber das entscheidende Organ für Bildung und Elimination der Plasmaester darstellt. Die aus dem Darm via Lymphe anflutenden Ester, die in Form der Chylomikronen in das Blut gelangen, würden auf Grund eben die-

ser Transportform sehr schnell von der Leber (Kupffer'sche Zellen) aus dem Plasma entzogen. Diese Schlüsse von M. FRIEDMANN werden durch folgende Befunde bestätigt: Das Fettsäuremuster der Cholesterinester zeigt in der Phase einer alimentären Lipämie keinerlei Veränderungen (16). Nach Injektion von Chylomikronen, die ^{14}C -markierte Cholesterinester enthalten, verschwindet das ^{14}C innerhalb von 20 Minuten weitgehend aus dem Blut, indem es von der Leber als einzigem beteiligten Organ abgefangen wird (26). Im Serum totalhepatektomierter Hunde taucht nach Injektion von ^{14}C -Acetat kein verestertes markiertes Cholesterin auf, aber auch freies ^{14}C -Cholesterin fehlt (32). Die Leber scheint also nicht nur das Monopol für die Plasmacholesterinester zu besitzen, sondern auch für die Beschickung des Plasmas mit freiem Cholesterin allein verantwortlich zu sein. (Nach ^{14}C -Acetat-Injektion kommt es in anderen Organen sehr wohl zur Synthese von markiertem freiem Cholesterin, eine Ausschüttung ins Blut unterbleibt jedoch.)

Ebenfalls von SPERRY (1935) (80) erstmals beschrieben ist eine Cholesterinesterase im Serum. Ihre Herkunft aus der Leber ist wahrscheinlich (92). Die Serumveresterungsreaktion ist durch neuere Arbeiten bestätigt (24,25), ihre Bedeutung wird allerdings für sehr gering gehalten (28,71).

Auf Grund der bisher dargestellten Bedeutung der Leber wird es verständlich, daß Veränderungen des Plasmacholesterins im Zusammenhang mit Leberkrankheiten schon sehr lange bekannt sind.

1862 wurde von FLINT (zit. in 63) auf eine Anhäufung des Cholesterins im Blut leberkranker Patienten aufmerksam gemacht, und FEIGL (20) beobachtete 1918 als erster einen Rückgang des Cholesterinesteranteiles im Blut bei akuter gelber Leberatrophie. THANNHAUSER (1926) (89) prägte dann für die bei Leberparenchymschäden auftretende Abnahme des Estercholesterins (begleitet von absolutem oder relativem Ansteigen des freien Cholesterins) den Begriff des "Estersturzes" und schlug die heute geläufige Untersuchung des Cholesterinesteranteiles am Gesamtcholesterin für die klinische Leberdiagnostik vor. EPSTEIN (18) differenzierte zwischen dem verminderten relativen Esteranteil bei Hypercholesterinämie in Fällen von

Obstruktionsikterus einerseits und absoluter Esterverminderung bei Norm- und Hypcholesterinämie in Fällen von Parenchymschäden andererseits und sah eine Parallelität zwischen dem Ausmaß des Estersturzes und dem Ausmaß des Leberschadens. Eine deutliche Beziehung zwischen Esterschwund und Grad des Ikterus beschrieb späterhin ZIEVE (1953) (95). Die Abnahme des relativen Esteranteiles gilt heute klinisch allgemein als kennzeichnendste und beständigste Störung in den Serumlipoiden bei Leberkrankheiten (66), wie MAN (51) schon 1945 feststellte.

Erst die Entwicklung und Anwendung neuer, vor allem chromatographischer Methoden (93,83,39,40,97) in den letzten Jahren führten über die lange geübte, globale Betrachtungsweise der Cholesterinester hinaus, ermöglichten detailliertere, fraktionierte Erfassung der einzelnen Cholesterinester und gewährten neuartige, differenzierte Einblicke in das physiologische und pathologische Verhalten der verschiedenen Cholesterinester und ihrer Ester-Fettsäuren. So konnten ZÖLLNER und Mitarbeiter (1961) mit einer dünnschichtchromatographischen Methode die folgenden, für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit grundlegenden Befunde erheben (99): Während im Serum von Gesunden die Verteilung der verschiedenen Cholesterinester weitgehend konstant und unabhängig vom Gesamtcholesterinspiegel ist, zeigte sich bei chronischen wie auch bei akuten Lebererkrankungen in 16 von 21 untersuchten Seren eine signifikante Verminderung der relativen Konzentration der Cholesterinester der Linolsäure und eine relative Vermehrung der Ester der Monoenfettsäuren und manchmal auch der gesättigten Fettsäuren. Nur in der Hälfte der Fälle mit abnormer Esterverteilung fand sich gleichzeitig auch ein erniedrigter Ester-Quotient. Daraus ergibt sich, daß die Aufschlüsselung der Cholesterinester in einzelne Fraktionen (je nach veresterten Fettsäuren) der globalen Betrachtung der Gesamtester in ihrem klinisch-diagnostischen Aussagewert deutlich überlegen ist. BOWERS et al. (5) konnten entsprechende Veränderungen des Fettsäuremusters der Cholesterinester im Serum von Leberkranken nachweisen und deuteten auf die Möglichkeit hin, daß weitere Untersuchungen der Ester und ihrer

Fettsäuren bei Leberschädigung Aufschlüsse geben könnten über einige Mechanismen des gestörten Fettsäure-Stoffwechsels überhaupt.

Aufgabe der vorliegenden experimentellen Arbeit sollte in diesem Sinne sein, einen Einblick zu gewinnen in diejenigen Mechanismen, die verantwortlich sind für eine Gesamtesterverminderung und vor allem für die Verschiebungen der einzelnen Ester mit Abnahme der Ester der essentiellen Fettsäuren im Serum bei Leberschädigung.

Untersuchungen von Veränderungen bei experimenteller Leberschädigung scheinen für die menschliche Pathologie deshalb gut verwertbar, weil die Leber, wie HARTROFT (33) es ausdrückt, ein relativ "phantasieloses" Organ ist, das lediglich ein begrenztes Repertoire an Antworten auf die verschiedenartigsten Schädigungen zur Verfügung hat. Diese wenigen Antworten scheinen für die erkrankte menschliche Leber wie für die experimentell geschädigte Leber von Versuchstieren in ihren pathologischen Grundlagen weitgehend identisch zu sein: besonders charakteristische Alteration des Ergastoplasmas (cisternale Desorganisation mit Ribosomenverlust) (14,45), definierte Veränderungen der sinusoidalen Zellwände (teilweises Verschwinden der Mikrovilli), Mitochondrienveränderungen sowie Fettinfiltration (67).

Für jede Leberkrankheit sind neben den degenerativen Zellveränderungen die Regenerationsvorgänge charakteristisch (67). Im gesamten Organ laufen diese beiden Vorgänge, Zelluntergang und Regeneration, synchron nebeneinander her. Der experimentellen Untersuchung ist es dagegen möglich, Modelle zu wählen, die diese beiden Grundaspekte jeder Leberkrankheit getrennt wiederzuspiegeln vermögen. So wurden in dieser Arbeit die Frühphase der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung als Modell der degenerativen Veränderungen und die Teilhepatektomieversuche zur Klärung der Veränderungen während eines reinen Regenerationsprozesses benutzt. Die Untersuchungen des Cholesterins und der verschiedenen Ester wurden sowohl im Serum wie auch im Bildungsort dieser Substanzen, der Leber, durchgeführt.

M A T E R I A L U N D M E T H O D I K

Als Versuchstiere dienten 87 erwachsene, männliche Sprague-Dawley-Albinoratten mit einem Körpergewicht zwischen 220 und 300 g, die jeweils vor Versuchsbeginn mindestens acht Tage lang in Gemeinschaftskäfigen des Klinik-Tierstalles gehalten wurden. Die Tiere bekamen zunächst eine aus hellem Brot und "Leitzstandardkost" zusammengesetzte Nahrung ad libitum, vom dritten Tage vor Versuchsbeginn an für zwei Tage nur helles Brot ebenfalls ad libitum, 24 Stunden vor dem Versuch wurde das Futter entzogen und lediglich Wasser angeboten.

Tetrachlorkohlenstoff-Versuche:

Die Tetrachlorkohlenstoffintoxikation erfolgte durch einmalige intraperitoneale Injektion von 0,04 ml Tetrachlorkohlenstoff (Merck p.a.) pro 100 g Körpergewicht, einer Dosis, die erfahrungsgemäß (36,66) zu selektiver, akuter Leberparenchymschädigung mit voller Reversibilität führt. 24 Stunden nach der Tetrachlorkohlenstoff-Injektion wurde wieder Nahrung (ausschließlich helles Brot) in die Käfige eingelegt. Die Tötung der Ratten nach den entsprechenden Versuchszeiten (2,10, 12,24,48,72 und 96 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung) wurde in Äthernarkose vorgenommen durch Thorakotomie und Sectie der Herzkammern, das Blut in Zentrifugengläsern aufgefangen und nach weitgehender Ausblutung der Tiere kann die Leber herauspräpariert (und auf Eis transportiert). Auf gleiche Weise zu Versuchsbeginn gewonnenes Material von nicht vergifteten Ratten diente zur Aufstellung von Normalwerten.

Teilhepatektomieversuche:

Von den insgesamt sechs Leberlappen der Ratte (12) wurden die drei großen ventralen Lappen (Lobus sinister und die zusammenhängenden Lobi sinister accessorius und dexter accessorius), die etwa zwei Drittel des gesamten Lebergewichtes ausmachen, reseziert. Die Operation wurde folgendermaßen durchgeführt: zur Narkoseprämedikation 0,4 ml Urethan (20 %)

pro 100 g Körpergewicht subcutan, etwa eine Stunde danach Äthernarkose mittels eines Ethergetrunkenen Wattebauschs; mediane Laparatomie, Darstellung der ventralen Leberlappen, tiefe Unterbindung dieser Lappen mit alkoholdesinfizierten, elastischen dicken Wollfäden und Resektion nahe an dieser gut haltenden, wenig ins Gewebe einschneidenden Abbindung. Getrennte Muskel- und Hautnaht beendeten die ohne bedeutende Blutung verlaufende Operation. (Die resezierten Leberlappen wurden sofort nach Entnahme auf Eis gebracht.) Als Kontrolltiere für diese Versuchsserie wurden Ratten benutzt, die einer Scheinoperation unterzogen wurden: Laparatomie und etwa 10 Minuten (entsprechend der Zeit der Hepatektomie-Operation) dauernde leichte Manipulationen an Darm und Omentum. Zu verschiedenen Zeiten (24 - 96 Stunden) nach der Operation wurden dann in gleicher Weise wie in den Tetrachlorkohlenstoff-Versuchen Blut und Leberstumpf bzw. Gesamtleber gewonnen.

Da die spontane Nahrungsaufnahme der operierten Tiere zu recht unterschiedlichen Zeiten, frühestens aber Ende des zweiten Tages p. op. erfolgte, wurde in den ausgewerteten Versuchen der Nahrungsentzug während der gesamten Versuchsdauer von 96 Stunden aufrechterhalten, um standardisierte Bedingungen zu schaffen.

Bei den menschlichen Lebern handelt es sich um autoptisches Material, das in allen Fällen innerhalb der ersten 24 Stunden post exitum entnommen wurde.*

Lipoidextraktion:

Die Aufarbeitung von Blut und Lebern bis zum Lipoidextrakt wurde in allen Versuchen unmittelbar im Anschluß an die Gewinnung des Materials vorgenommen.

*Für die Überlassung dieses Materials danke ich Herrn Professor Dr. GEORGII, Pathologisches Institut und Herrn Professor Dr. JUNGWIRTH, Gerichtsmedizinisches Institut der Universität München.

Von dem durch Zentrifugieren des Blutes erhaltenen Serum wird 1 ml direkt in die Lipoidextraktion übergeführt. Das Lebergewebe wird nach Feststellung des Frischgewichtes mit etwa der gleichen Menge physiologischer Kochsalz-Lösung versetzt und mittels eines Rotationsmesser-Homogenisators (Edmund BÜHLER, Tübingen) vollständig homogenisiert, so daß das Homogenisat sich pipettieren läßt. Das Volumen des Homogenisates wird gemessen, 4 ml davon werden für die Lipoidextraktion eingesetzt.

Die Gesamtlipoidextraktion erfolgt mit einem Methanol-Chloroform-Gemisch (v : v 1 : 2) genau nach den Angaben von W.M.SPERRY (82). (Für die Lipoidextraktion aus 4 ml Leberhomogenisat ist entsprechende Vervierfachung der Volumina der Extraktionsmittel notwendig.) Die Reinigung des Lipoidextraktes von nicht-lipoiden Beimengungen mit einem Fünftel Volumen wässriger 0,02 % Calciumchlorid-Lösung in Anlehnung an eine Methode von FOLCH, mitgeteilt von SPERRY (82) wurde von N.ZÖLLNER an verschiedenen Stellen ausführlich beschrieben (103,97,102).

Mit aliquoten Teilen der gereinigten Lipoidphase des SPERRY-Extraktes wurden alle chemischen Analysen dieser Arbeit durchgeführt.

Cholesterinbestimmung:

Zur Bestimmung des Cholesterins diente die Methode von ZAK et al. (94,103,72), die auf der Eisenchlorid-Reaktion (LIFSCHÜTZ'sche Reaktion) mit photometrischer Auswertung des sich bildenden Farbkomplexes beruht.

Die Bestimmung des gesamten Serum-Cholesterins erfolgte, ausgehend von einem im Wasserbad eingeeengten, mit Stickstoff-Strom zur Trockne gebrachten aliquoten Teil des Lipoidextraktes, nach den Originalangaben von ZAK. Für die Bestimmung des freien Cholesterins sowohl des Serums als auch der Leber wurde der trockene Rückstand in 1 ml Aceton-Alkohol absolut (v : v 1 : 1) aufgenommen und die Analyse dann nach ZAK (mit Zugabe von Digitoninlösung beginnend) weitergeführt. Das Estercholesterin wird rechnerisch als Differenz zwischen Gesamtcholesterin und freiem Cholesterin ermittelt.

Die Bestimmung des Gesamtcholesterins der Leber nach der direkten ZAK-Methode führte im Vergleich mit den Literaturangaben (13) zu erheblich höheren Werten für das Gesamtcholesterin und vor allem für das errechnete Estercholesterin und den Ester-Quotienten. Die Vermutung lag nahe, daß außer Cholesterin noch andere Sterine der Leber von der direkten Eisenchlorid-Reaktion erfaßt würden. Es wurde deshalb eine Verseifung zur Spaltung der Cholesterinester vorgenommen und anschließend das Gesamtcholesterin über die Digitoninfällung (entsprechend dem Vorgehen zur Bestimmung des freien Cholesterins) bestimmt: Die Werte lagen um mehr als 30% niedriger als bei der direkten Methode. Zum Beweis der vermuteten Verunreinigungen im direkten ZAK-Ansatz wurden die Absorptionsspektren der mit Eisenchlorid-Reagenz in den verschiedenen Cholesterinansätzen entstandenen Farbkomplexe gemessen. Während das Spektrum der Ansätze für den Cholesterinstandard (Cholesterin reinst, SCHUCHARDT) sowohl mit dem Spektrum der Ansätze für freies Cholesterin aus Serum und Leber als auch für Gesamtcholesterin der Leber nach vorhergehender Verseifung übereinstimmte (Absorptionsmaxima bei 555 $m\mu$ und 375 $m\mu$), zeigte der direkte ZAK-Ansatz für gesamtes Lebercholesterin ohne vorhergehende Verseifung ein zusätzliches, sehr deutliches Absorptionsmaximum (bei 430 $m\mu$).

Eine vorhergehende Verseifung ist demnach für die Bestimmung des gesamten Lebercholesterins unbedingt notwendig. Sie wurde folgendermaßen durchgeführt (modifiziert nach ROSIN (72)): Zum eingedampften Rückstand eines aliquoten Teiles des Lipoidextraktes gibt man 1 ml Aceton-Alkohol absolut ($v : v \quad 1 : 1$) sowie einen Tropfen einer 50 % wässrigen Kalilauge und mischt gründlich durch. In einem Wasserbad von 50° C wird dann 45 Minuten lang verseift. (Dünnschichtchromatographische Kontrolle dieser verseiften Lösung zeigt, daß die Cholesterinester unter diesen Bedingungen quantitativ gespalten werden). Nach Abkühlen wird ein Tropfen Phenolphthalein zugegeben und mit 5-normaler Essigsäure neutralisiert. Nach erfolgtem Farbumschlag wird noch ein Tropfen Essigsäure hinzugefügt. Nach Zugabe von Digitoninlösung läßt

man etwa 45 Minuten stehen zur Entwicklung des Digitonidniederschlages. Der weitere Bestimmungsgang erfolgt wie für freies Cholesterin bei ZAK.

Dünnschichtchromatographie der Cholesterinester:

Die dünnschichtchromatographische Trennung der verschiedenen Cholesterinester mit quantitativer Auswertung der Chromatogramme nach ZÖLLNER und Mitarbeitern (105,100,101,98) führt zur Erfassung von fünf, entsprechend dem Sättigungsgrad der mit Cholesterin veresterten Fettsäuren sauber definierten Esterfraktionen: Fraktion GF enthält die Cholesterinester der gesättigten Fettsäuren, vorwiegend Palmitinsäure, daneben Stearinsäure; Fraktion MF die Ester der Monoenfettsäuren, vorwiegend Ölsäure, daneben Palmitoleinsäure; Fraktion DF die Ester der Dienfettsäuren, ausschließlich Linolsäure; Fraktion TF die Ester der Tetraenfettsäuren, fast ausschließlich Arachidonsäure; Fraktion PF die Ester der Polyenfettsäuren, langkettige, hochungesättigte C₂₀ und C₂₂ - Fettsäuren.

Gegenüber der detaillierten gaschromatographischen Analyse der einzelnen Cholesterinesterfettsäuren besitzt die dünnschichtchromatographische Methode den Vorzug der schnelleren Durchführbarkeit bei größeren Versuchsreihen. Außerdem stellen die für die Fragestellung dieser Arbeit besonders wesentlichen DF- und TF-Fraktionen der Cholesterinester individuelle Ester dar (Linolsäure- und Arachidonsäureester), so daß der Aussagewert der dünnschichtchromatographischen Methodik voll ausreichend ist.

Zur Untersuchung der Cholesterinester des Serums nach ZÖLLNER wird eingeeengter, etwa 7 µg Ester enthaltender Lipoidextrakt direkt in einem schmalen Strich auf die mit Kieselgel G (1/4 mm Schichtdicke) beschickte Spezialplatte (200 x 38 mm) aufgetropfelt. Die Entwicklung wird durch dreimalige aufsteigende Chromatographie mit Tetrachlorkohlenstoff als Laufmittel vorgenommen. Sichtbar gemacht werden die auf diese Weise getrennten 5 Fraktionen durch Besprühen mit Antimon-III-Chloridlösung (25 % in Chloroform)

und nachfolgendes Erhitzen. Die quantitative Bestimmung erfolgt über Ermittlung der Farbintensitäten in einem BECKMANN-Spektral-Photometer (Modell DU G 4700) mit Registrierzusatz und einer Einrichtung zur Bewegung der Platten vor dem Lichtspalt. Die registrierten 5-gipfligen Kurven werden unter Berücksichtigung der vor dem Besprühen ermittelten Leerabsorption der Kieselgelschicht planimetriert. Zur Berechnung der einzelnen Esterfraktionen (in Relativprozenten) finden bestimmte Faktoren Verwendung. Technische Einzelheiten der Serumersterchromatographie sind in den Publikationen von ZÖLLNER und Mitarbeitern zu finden (105,100,101,98). Die Absolutwerte für die einzelnen Fraktionen errechnen sich über die nach der ZAK-Methode erhaltenen Werte des Estercholesterins.

Während bei der Untersuchung der Cholesterinesterfraktionen des Serums die direkte Auftragung von eingeengtem Lipoidextrakt im Hinblick auf eine saubere Abtrennung der Esterfraktionen von den übrigen Lipoiden (102) voll befriedigend ist (100), kommt es bei der direkten Chromatographie des Leberlipoidextraktes zu einer Überlagerung der Cholesterinesterbanden durch mitgeschleppte andere Lipide (vor allem Triglyceride) und damit zur Verwischung der Grenzen der einzelnen Esterfraktionen. Diese ungenügende Abtrennung ist Folge des relativ nur sehr kleinen Anteils der Cholesterinester an den Gesamtlipoiden der Leber: etwa 1 : 100 (13) gegenüber etwa 1:5 im Serum (62,29). Um die für eine quantitative Auswertung der Chromatogramme notwendige saubere Darstellung der Esterfraktionen der Leber zu erreichen, wurde eine dünnschichtchromatographische Isolierung der Cholesterinester aus dem Gesamtlipoidextrakt vorangeschickt.

Zur Abtrennung dienen Platten (20 x 20 cm), die mit einer Kieselgelschicht von 0,5 mm Dicke bestrichen werden. Eingeengter, ungefähr 100 µg Cholesterinester enthaltender Gesamtlipoidextrakt wird in einem etwa 5 cm breiten Strich aufgetropfelt. Die Entwicklung der Platten erfolgt mit einem Fließmittel aus Petroleumbenzin (Kp. 50 - 70°C Riedel de Haën)

und Methyl-Äthyl-Keton (Merck) v : v 95 : 5 (modifiziert nach Fließmittel B von ZÖLLNER (102)). Da sich die Triglyceridfront unterhalb der nahe der Fließmittelfront liegenden Cholesterinester nach dem Abdampfen der mobilen Phase ohne irgendwelche Maßnahmen deutlich als helle Grenze markiert, kann der die Cholesterinester tragende Kieselgelbezirk oberhalb der Triglyceride sofort abgekratzt und in einem Zentrifugenglas in 6 ml Chloroform aufgenommen werden (unter Verzicht auf eine zunächst angewendete Abgrenzung der Fraktionen unter der UV-Lampe nach Rhodamin 6 - G - Besprühung (102)). Mit einem Glasstab wird gründlich durchgemischt zur Elution der Ester aus dem Kieselgel. (Einmalige ausgiebige Elution reicht aus zur nahezu quantitativen Erfassung aller Ester, wie dünnenschichtchromatographische Kontrollen nach weiteren Elutionsschritten zeigen.) Das aufgeschlemmte Kieselgel wird niederzentrifugiert, 5 ml der klaren, die Cholesterinester enthaltenden Chloroformlösung abpipettiert, im Rotationsverdampfer eingeeengt, und eine etwa 7 µg Ester entsprechende Menge für die Trennung der einzelnen Fraktionen eingesetzt.

Zur Bestimmung des Gesamtfettsäuregehaltes der Leber wurde eine von RAPPORT und ALONZO angegebene photometrische Methode (69) benutzt: Spaltung der Esterbindungen mit alkalischer Hydroxylaminlösung und Bildung von Hydroxamaten der Fettsäuren, die mit Eisenperchlorat eine rote Farbe ergeben; photometrische Bestimmung der Farbintensität.

Gaschromatographische Analyse der Gesamtfettsäuren der Leber:

Die der Gaschromatographie vorausgehende Methylveresterung der Fettsäuren sowie die Extraktion der Methylester wurden nach einer von D. EBERHAGEN beschriebenen Mikromethode (17) ausgeführt. Die gaschromatographische Untersuchung der Fettsäuremethylester (Packard-Gaschromatograph, Säulenfüllung: Bernsteinsäureäthylenglykopolyester auf Chromosorb, 180°C; Trägergas: Argon; Tritium-Detector 215 - 220°C), die Hydrierung der Fettsäuren und Berechnung der Fettsäureverteilung sind ausführlich dargestellt von D. EBERHAGEN (105).

ER G E B N I S S E

I. Tetrachlorkohlenstoff-Versuche

Um die biochemischen Befunde dieser Versuchsreihe in ihrer Korrelation mit dem pathologischen Geschehen der Leberparenchymschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff verstehen zu können, sei ein kurzer Abriss der aus der Literatur entnommenen Tatsachen über die Pathologie der Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation vorangeschickt.

Makroskopisch fällt an den vergifteten Lebern bereits 5 bis 10 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff-Applikation neben einer Schwellung des Gewebes vor allem eine Vergrößerung der lobulären Zeichnung auf, die nach 24 Stunden besonders deutlich wird (66,36). Dieser verstärkten Lobuluszeichnung entsprechen mikroskopisch hydropische Degeneration und daran anschließende Nekrose der Zellen in den zentralen, sich verbreiternden Lobulusbezirken (66,36) sowie eine für die Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung charakteristische Fettablagerung in der Intermediärzone des Lobulus (66). Bereits in den ersten Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff-Applikation (beginnend 30 Minuten nach intraperitonealer Injektion) kann man lichtmikroskopisch die hydropische Schwellung der zentrolobulären Zellen erkennen (66), elektronenoptisch zeigen diese Zellen vakuoläres Auseinanderweichen ihrer Ergastoplasmalamellen (56), während die Mitochondrienfunktion zu dieser Zeit noch völlig unverändert erscheint (56,70). Die Anschauung, daß das endoplasmatische Reticulum mit seinen Encyмен den ersten Angriffspunkt des Tetrachlorkohlenstoffs und den Schlüssel für das pathogenetische Verständnis darstelle (56), wird durch die Stoffwechseluntersuchungen von RECKNAGEL (70) an den subzellulären Fraktionen gefestigt: Während in den ersten beiden Stunden nach oraler Applikation von Tetrachlorkohlenstoff - noch rascheren Wirkungseintritt würde die intraperitoneale Injektion bringen (56) -, zur Zeit der maximalen Tetrachlorkohlenstoff-Konzentration in der Leber und einer schon ausgeprägten Triglyceridanhäufung die Citratbildung und mitochondriale Atmung noch vollkommen ungehemmt scheinen, wird bereits die Aktivität der für die mikrosomale Fraktion typischen Glucose-6-Phosphatase stark erniedrigt gefunden. Daß allerdings auch

die Mitochondrien und damit der oxydative Stoffwechsel noch in der Frühphase (in den ersten 15 Stunden) alteriert werden, darf als sicher gelten: Absinken der Aktivitäten der Succinodehydrogenase und Cytochromoxydase (91), starke ATP-Vermin- derung in den geschwollenen und verstärkt durchlässigen Mito- chondrien (15), eingeschränkte Oxydation von Citrat, Malat und Pyruvat sowie Minderung der mitochondrialen Atmungsakti- vität sind nachgewiesen (56).

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß am ersten Tage der Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung die Pathoge- nese zunächst bestimmt wird durch Veränderungen von Struktur und Funktion des für Cholesterinsynthese, Cholesterinver- esterung (27) und Produktion von Serumlipoproteiden verant- wortlichen Ergastoplasmas (67), während nach einigen Stunden Störungen der durch Tricarbonsäurezyklus, Atmungskette und Fettsäureoxydation charakterisierten Mitochondrien folgen (67).

Während am Ende des zweiten Tages nach Tetrachlorkohlen- stoff-Vergiftung eine maximale Reduktion an lebendem Zell- material erreicht ist (91), sind bereits nach 24 Stunden mit nachweisbarer Mitoseaktivität die Regenerationsvorgänge ange- laufen (91). Es kommt also vom zweiten Tage an zu einer Über- lappung zwischen Nekroseentwicklung und den Regenerations- prozessen, so daß nur die ersten 15 Stunden als reine Schä- digungsphase angesehen werden dürfen. Vom dritten Tage an beginnt dann die Erholung der Leber, nach 1 - 2 Wochen fin- den sich keinerlei Restveränderungen mehr (66,36).

Eigene Befunde an Cholesterin und Cholesterinestern nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung:

In Tabelle I sind die nach den Formeln der Wissenschaft- lichen Tabellen, Geigy, statistisch ausgearbeiteten Normal- werte von 15 unvergifteten Ratten zusammengefaßt. (Vergleich- bare Werte finden sich in der Literatur (62,13,28)).

Aus den mittleren quadratischen Abweichungen der Einzel- messungen (sx_1) ist folgendes abzulesen:

1.) Unter den Cholesterinwerten des Serums stellt der Esterquotient den konstantesten Wert dar und ist damit für die Beurteilung von pathologischen Veränderungen besonders geeig-

net. Das entspricht auch seiner bekannten klinischen Bedeutung.

2.) Die Leberwerte des Cholesterins, insbesondere der Ester und damit des Esterquotienten, weisen eine auch von anderen Autoren (13,28) angegebene beträchtliche Schwankungsbreite auf.

3.) Die einzelnen Esterfraktionen im Serum zeigen eine bemerkenswert geringe Streuung ihrer prozentualen Verteilung, während die Absolutwerte wesentlich größere Abweichungen erkennen lassen.

4.) Die prozentualen und besonders die absoluten Werte (mg %) der verschiedenen Ester in der Leber sind wiederum von beträchtlicher Inkonstanz (28).

Zur PF-Fraktion von Serum und Leber ist zu bemerken, daß sie sich wegen ihres sehr kleinen Anteiles an den Gesamt-estern mit der angewandten Methode quantitativ nicht genügend exakt erfassen läßt und deshalb bei der weiteren Darstellung der Versuchsergebnisse unberücksichtigt bleiben soll.

Weiterhin läßt die Tabelle I erkennen, daß im Serum das Gesamtcholesterin zu ca. 76 % von verestertem Cholesterin dargestellt wird, während man in der Leber einen Esterquotienten von nur ca. 18 % findet. Der absolute Estergehalt (in mg %) der Leber liegt allerdings etwas höher als der des Serums. Das freie Cholesterin der Leber beträgt etwa das Siebzehnfache des freien Serumcholesterins. Während mehr als 50 % des Estercholesterins im Serum mit Arachidonsäure (C20 : 4) verestert sind, liegen in der Leber die Monoen-Ester mit ca. 37 % an der Spitze, die TF-Ester machen nur ca. 23 % aus: Damit ist die Tetraen-Fraktion, wie aus einem Vergleich der Absolutwerte von Leber- und Serumfraktionen der Tabelle I hervorgeht, die einzige Esterfraktion, welche ein negatives Gefälle von der Leber zum Serum aufweist.

Die Veränderungen des Serumcholesterins nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung sind der Abbildung 1 zu entnehmen.

Innerhalb der ersten 15 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff - d.h. in der eigentlichen Schädigungsphase - kommt es im Serum zu einem Estersturz auf etwa 50 % der Ausgangswerte. Das freie Cholesterin dagegen steigt in derselben Zeit stark an und zeigt auch während der Esterregeneration, die nach

15 Stunden bereits deutlich einsetzt, eine bemerkenswerte Gegenläufigkeit zum Estercholesterin, indem es (nach kurzem Überschießen 15 - 24 Stunden nach Vergiftung) nach 24 Stunden wieder abzusinken beginnt.

Die Werte für das Estercholesterin in der Leber (Abbildung 2) bleiben während des massiven Estersturzes im Serum und auch während des weiteren Versuchsverlaufes eindeutig im Bereich der Norm. Das freie Cholesterin der Leber zeigt indes in den ersten 15 Stunden (während der deutlichen Steigerung im Serum) eine Tendenz zur Abnahme, nach 24 und 48 Stunden einen Wiederanstieg, um danach langsam unter normale Werte abzufallen.

Das Verhalten der einzelnen Cholesterinesterfraktionen im Serum ist in den Abbildungen 3 - 6 zu erkennen.

Die Darstellung in relativen Prozenten der Gesamtester (Abb. 3) macht vor allem eine erstaunliche Selbständigkeit der weitgehend ungleichsinnig reagierenden Ester im pathologischen Geschehen deutlich. Dabei ist TF prozentual den übrigen Fraktionen gegenüber während des ganzen Versuches stark vermindert (mit einem Minimum nach 48 Stunden).

Die tatsächlichen quantitativen Verschiebungen, die erst zum Verständnis dieser Veränderungen führen, gehen aus der Darstellung in Absolutwerten (mg %) hervor (Abb. 4). Auf Grund dieser Darstellungsart wird klar, daß von dem massiven Serumestersturz in den ersten 15 Stunden im wesentlichen die Ester der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die Arachidonsäure- und Linolsäureester, betroffen sind, beide mit einem Abfall auf je 40 % ihres Ausgangswertes. Die Ester der gesättigten und Monoenfettsäuren nehmen dagegen vergleichsweise nur gering ab: GF ist nach 15 Stunden auf ca 78 % abgesunken; MF hat sein Minimum nach 5 Stunden mit einer Depression auf ca. 75 % der Norm, steigt aber danach bereits wieder an.

Die Verminderung der einzelnen Fraktionen am 15-Stunden-Punkt im Vergleich mit ihren Normalwerten veranschaulicht die Abbildung 5.

Aus der Abbildung 6 läßt sich darüber hinaus deutlich ablesen, daß bei Betrachtung der absoluten Verluste der Einzel-fraktionen (in mg %) die TF-Fraktion als Serumhauptfraktion

zu ca. 68 % für die absolute Gesamtesterverminderung (= 100 %) verantwortlich ist, DF zu ca. 24 %, während die GF- und MF-Verluste für den absoluten Estersturz kaum ins Gewicht fallen.

Nach dem 15-Stunden-Punkt beginnt dann die Regeneration der Ester der beiden essentiellen Fettsäuren (Abbildung 4). Dabei überwiegt zunächst die DF-Fraktion, die nach 48 Stunden ihren Normwert erreicht, nach 48 Stunden steigt auch die TF-Fraktion steiler an und hat nach 96 Stunden ihr Ausgangsniveau wiedererlangt, während DF nach 96 Stunden beträchtlich über dem Ausgangswert liegt. GF bleibt bis zum Versuchsende auf dem in der Zeit zwischen 15 und 24 Stunden erreichten erhöhten Niveau, MF dagegen fällt nach der am Ende des ersten Tages beobachteten Steigerung um etwa 50 % wieder allmählich zur Norm zurück.

So wie die Gesamtester der Leber nach Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation im Bereich der Normalwerte bleiben, zeigen auch die einzelnen Esterfraktionen in der vergifteten Leber (Abb. 7) keine signifikanten, etwa den Befunden im Serum vergleichbaren Veränderungen. Allenfalls lassen sich gewisse Tendenzen feststellen. (So scheinen sich die DF- und TF-Fraktionen in den ersten 15 Stunden andeutungsweise zu vermindern. Etwas deutlicher ist eine geringe Anstiegstendenz von TF ab 24 Stunden, verbunden mit einer prozentualen Abnahme von MF.)

Um dem Verständnis des Mechanismus der beschriebenen Esterveränderungen im Serum näher zu kommen, wurden für die beiden individuellen Esterfraktionen Arachidonsäure- und Linolsäureester die bei der Ausschüttung dieser Ester aus der Leber ins Serum wirksamen Konzentrationsgradienten berechnet (Tab. II). Die Berechnung erfolgt über die jeweiligen Absolutwerte der Fraktionen, wobei diese Werte in ihrer Konzentration nur auf einen Leberzellraum von 75 % bezogen werden: Denn nur in der wässrigen Phase der Zelle von ca. 75 % können die Cholesterinester für ein Konzentrationsgefälle zum Serum hin wirksam werden, während die ca. 25 % Gerüstsubstanzen (13) aus dieser Betrachtung ausgeschaltet werden müssen. Es ergibt sich also die folgende Formel für den Konzentrationsgradienten:

$$KG = \frac{\text{mg \% der Fraktion in der Leber}}{\text{mg \% der Fraktion im Serum}} \times \frac{1}{0,75}$$

Aus den Konzentrationsgradienten (KG) wird ersichtlich (Tabelle II), daß TF (die einzige Fraktion mit negativem Gefälle Leber : Serum und damit einem KG kleiner als 1) bereits 10 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff ein positives Gefälle Leber : Serum zeigt, eine maximale Erhöhung des KG am 15-Stunden-Punkt aufweist und dann allmählich wieder zur Norm zurückkehrt. DF erfährt ebenfalls eine Erhöhung des KG auf fast das Dreifache am 15-Stunden-Punkt.

Für beide Ester, Linolsäure- und Arachidonsäureester, scheint damit eine ausgeprägte Hemmung ihres Überganges von der Leber ins Serum während der ersten 15 Stunden vorzuliegen.

Diskussion der Ergebnisse der Tetrachlorkohlenstoff-Versuche.

Die Ergebnisse der Tetrachlorkohlenstoff-Versuche zeigen, daß die experimentelle Leberschädigung mit Tetrachlorkohlenstoff im Serum der Ratte Cholesterinester-Veränderungen - Estersturz mit ausgeprägter Verminderung vor allem der Ester der mehrfach ungesättigten Fettsäuren - zur Folge hat, die denen im Serum von leberkranken Patienten durchaus vergleichbar sind. Auf Grund dieser guten Bewährung des Tetrachlorkohlenstoff-Modelles scheint es für das Verständnis der Cholesterinester-Veränderungen bei Leberkrankheiten von Bedeutung zu sein, anhand der Befunde und unter Verwendung der Literatur einige Aspekte dieser Veränderungen zu erörtern.

Dem Serumestersturz in den ersten 15 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff-Injektion, der hauptsächlich durch eine rasche Abnahme der TF- und DF-Ester zustande kommt, steht in der Leber eine gleichbleibende Gesamtesterkonzentration gegenüber mit nicht signifikant verändertem Muster der einzelnen Ester. Diese nahezu selektive Reaktion der Ester der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und die erstaunliche Diskrepanz zwischen den Befunden im Serum und in der Leber lassen von vornherein vermuten, daß recht differenzierte und spezifische Mechanismen zugrunde liegen müssen, denen nur der Versuch

einer detaillierten Betrachtung des Stoffwechsels der einzelnen Ester im Zusammenhang mit dem Gesamtlipoidstoffwechsel bei Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff gerecht werden kann.

Die Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation führt zu einer massiven Anhäufung von Fettsäuren in Form von Triglyceriden in der Leberzelle (70,38,49,73,77). Als pathologisches Substrat für die Entwicklung dieser Fettsäureakkumulation wird vor allem die schon beschriebene frühe Schädigung des endoplasmatischen Reticulums angesehen (70). Eine Störung im Lipoproteidstoffwechsel dieser Zellstruktur wird als wesentlicher Mechanismus für die Verfettung verantwortlich gemacht. MALING (50) zeigte an Tetrachlorkohlenstoff-vergifteten Ratten, daß injiziertes ^{14}C -Palmitat zwar schnell in die Leber-Triglyceride eingebaut wird, aber nur zu einem sehr kleinen Teil wieder ins Plasma gelangt. SCHOTZ (73) stellte ebenfalls mit Hilfe von ^{14}C -Palmitat-Injektion eine hochsignifikante Abnahme der Triglyceridausschüttung fest. SEAKINS (77) erbrachte den Nachweis einer Lipoproteid-Synthesestörung: Die Incorporation von injiziertem ^{14}C -Leucin in die Leber- und Serumlipoproteide ist nach Tetrachlorkohlenstoff nachdrücklich gehemmt.

Als Herkunftsort der angehäuften Triglyceridfettsäuren gelten die peripheren Fettdepots. HORNING (38) und MALING (49) betrachten die essentielle Linolsäure als "tracer": Da die Linolsäure in der Leber nicht synthetisiert werden kann, selbst bei stärkster Fettsäureanhäufung in der Leber aber in ihrer relativen Konzentration unverändert bleibt, muß ihr Ursprung, und damit wohl auch der der übrigen Fettsäuren (88), extrahepatisch sein. Die normale Anflutung der Fettsäuren aus den Depots in Form der freien Fettsäuren (19) scheint bei Vorliegen einer Triglyceridsekretionsstörung der Leberzelle für die Entwicklung einer Fettleber bereits vollkommen ausreichend zu sein (64). Immerhin könnte die von BRODY (6) beobachtete Catecholaminausschüttung nach Tetrachlorkohlenstoff zu einer erhöhten Mobilisation von freien Fettsäuren (18) und damit zu einem erhöhten Anstrom zur Leber führen.

Der massive Anstau von Fettsäuren in der geschädigten Leber äußert sich nun allein in einer Erhöhung der Triglyceride. Phospholipide (38,77) und Cholesterinester, wie aus den eigenen Versuchen hervorgeht, sind nicht vermehrt. Indessen sind wie die Triglyceride (73,50) auch die Phospholipide im Serum erniedrigt (77). Den Estersturz nach Tetrachlorkohlenstoff zeigen die eigenen Ergebnisse. Eine Sekretionshemmung infolge Störung der Lipoproteidbildung und -ausschüttung scheint damit für alle Lipide zu bestehen. Da sich aber die Phospholipide (38,77) und Cholesterinester in der Leber nicht anhäufen, sondern im Bereich der Normalwerte bleiben, muß sich die Störung zusätzlich auch auf die Synthese dieser Lipide erstrecken. Das ist für die Cholesterinester gut denkbar, da sich die Cholesterin-Esteraseaktivität im endoplasmatischen Reticulum und in den Mitochondrien befindet (3,27), also in den durch Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Strukturen. Diese globalen Feststellungen können allerdings noch nicht das differenzierte Verhalten der verschiedenen Ester erklären.

Im Depotfett finden sich nur minimale Mengen von Arachidonsäure, die Linolsäure dagegen macht ca. 22 % aller Fettsäuren im Rattendepotfett aus, den Hauptanteil stellen die gesättigten Fettsäuren (vorwiegend Palmitinsäure) mit ca. 40 % und die Monoenfettsäuren (vor allem Ölsäure) mit ca. 38 % dar (10). In der Tetrachlorkohlenstoff-vergifteten, verfetteten Leber müßte der Einstrom und Anstau von derart zusammengesetzten Fettsäuren zu einer Veränderung im Mischungsverhältnis der Leberfettsäuren führen. Tatsächlich fand MARKEES (52) 12 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoff (intraperitoneal) eine relative Verminderung der Arachidonsäure in den Gesamtfettsäuren der Leber, während der absolute Gehalt an Arachidonsäure unverändert blieb. Arachidonsäure ist im wesentlichen nur Bestandteil der Leber-Phospholipide und der Cholesterinester. Da aber nach Tetrachlorkohlenstoff keine vermehrte Synthese dieser Lipide stattfindet, stünde damit für die Veresterung absolut genügend Arachidonsäure zur Verfügung. Indessen scheint aber nicht der absolute Wert, sondern das relative Mischungsverhältnis der Leberfettsäuren entscheidend

zu sein für die Veresterung (104). So sinkt auch in der Tat der Arachidonsäuregehalt der Leber-Phosphatide nach Tetrachlorkohlenstoff deutlich ab (38). Das veränderte Fettsäure-Mischungsverhältnis kommt indessen in den Lebercholesterinestern nicht signifikant zum Ausdruck, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen. Es müssen demnach noch andere Mechanismen vorhanden sein, die die Auswirkung des verminderten relativen Arachidonsäuregehaltes der Leber zumindest überdecken. Für die Genese der Serum-DF-Verminderung kann diese veränderte Fettsäuremischung im Leberpool auf keinen Fall verantwortlich gemacht werden, da die Linolsäure ja ihre relative Konzentration in der Leber nicht ändert.

Einen möglichen Weg zum Verständnis der Tetrachlorkohlenstoff-Versuchsergebnisse könnten die Untersuchungen von ROHEIM, HAFT et al. (71,30) bieten. Die Cholesterinester bilden definierte Lipoproteine und lassen in vitro im Gegensatz zu den übrigen Lipoiden keinen nennenswerten Austausch zwischen den verschiedenen Lipoproteinen erkennen. Somit erscheint gerade bei den Cholesterinestern eine Betrachtung von verschiedenen Esterproteinverbindungen möglich und sinnvoll. Die Verteilung der einzelnen Ester auf die Lipoproteinfraktionen verschiedener Dichte (D) ist sehr charakteristisch: Die "low density lipoproteins" (= LDL, $D < 1,019$) sind reich an MF und spiegeln weitgehend das Leberestermuster wieder; die "high density lipoproteins" (= HDL) dagegen enthalten große Mengen von DF und besonders TF. Die LDL besitzen einen weitaus höheren Umsatz als die HDL: Diese größere Umsatzrate betrifft sowohl ihre Ester als auch ihre Eiweißkomponente. Die menschlichen Lipoproteine zeigen identische Unterschiede in ihrer Verteilung von Cholesterinestern der Ölsäure und Estern der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (47). HAVEL (34) wies nun in Serien von leberkranken Patienten nach, daß die LDL ansteigen, während die HDL deutlich abfallen. Ebenfalls eine Abnahme der Lipoproteine höherer Dichte (welche elektrophoretisch die α -Fraktion darstellen) beschrieb PEZOLD bei Lebercirrhosen (61).

Demnach scheint sich also die Synthesehemmung, zumindest aber die Hemmung der Ausschüttung der Lipoproteine bei Leberparenchymschädigung besonders oder ausschließlich auf die Lipoproteine höherer Dichte auszuwirken.

Bringt man diese Befunde nun mit den eigenen Ergebnissen nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung in Zusammenhang, so könnte man zur Deutung dieser Ergebnisse folgende Hypothese aufstellen:

Da die TF- und DF-Ester vorwiegend in den Lipoproteinen höherer Dichte transportiert werden, muß eine vorzugsweise die Ausschüttung dieser Lipoproteine betreffende Störung zu einer nahezu selektiven Verminderung von TF und DF im Serum führen, wie sie bei den Tetrachlorkohlenstoff-Versuchen beschrieben ist. Die Annahme einer solchen selektiven Sekretionshemmung steht auch mit den Veränderungen der berechneten Konzentrationsgradienten im Einklang. Die kaum oder gar nicht gehemmte Ausschüttung der Lipoproteine niederer Dichte, welche vorwiegend die MF- und GF-Ester transportieren, könnte auf der anderen Seite die nur geringe MF- und GF-Erniedrigung im Serum erklären.

Es kommen für die Deutung der Tetrachlorkohlenstoff-Ergebnisse noch zwei weitere Faktoren in Betracht, die an der Entwicklung der Serumesterveränderungen beteiligt sein könnten.

1.) SCHOTZ (73) konnte für die Serumtriglyceride beweisen, daß auch ihre Aufnahme durch die Tetrachlorkohlenstoff-geschädigte Leber bemerkenswert herabgesetzt ist. Das könnte unter Annahme analoger Verhältnisse für die hepatische Aufnahme der Darmchylomikronen bedeuten, daß die aus der Darmmucosa via Lymphe ins Blut gelangenden Ester nicht wie normalerweise sehr rasch von der Leber aufgenommen würden (26), sondern im Serum zu einem größeren Teil verweilten. Die Fettsäurezusammensetzung der Darmlymphester ist nach GRIMMER (29) folgende (in Mol %): ca. 48 % gesättigte, 19 % Monoenfettsäuren, 18 % Linolsäure und nur ca. 7 % Arachidonsäure. Eine Beimischung eines größeren Teiles dieser Darmester zum Serum müßte somit auch zu einer Verminderung der Arachidonsäureester im Serum beitragen, könnte andererseits die geringe Beteiligung von MF und GF am Estersturz mit erklären helfen. Der DF-Sturz im Serum bliebe allerdings bei alleiniger Erklärung mit einer solchen Hypothese unverständlich. Die gestörte Aufnahme der Darmester durch die Leber spielt also sicherlich nur eine sehr untergeordnete Rolle, wenn sie quantitativ überhaupt ins Gewicht fällt.

2.) Unterstellt man, daß die Serumcholesterinesterase bei Leberschädigung absinkt, wie TURNER (92) es in menschlichen

Seren bei Leberkrankheiten fand, so könnte ein partieller Ausfall dieser Serumveresterungsreaktion für die TF- und DF-Abnahme im Serum von möglicher Bedeutung sein: Denn nach GLOMSET (25) ist diese Serumesterase eine Acyltransferase, welche vorzugsweise die mehrfach ungesättigten Fettsäuren des Lecithins auf Cholesterin überträgt. Eine Beeinträchtigung dieser Reaktion könnte, falls der Serumveresterung überhaupt eine physiologische Bedeutung zukommt (was umstritten ist (28,71)), den TF- und DF-Sturz im Serum mitbestimmen.

Aus der Diskussion der Esterveränderungen ergibt sich auch eine Erklärungsmöglichkeit für das beobachtete, zum Estercholesterin gegensinnige Verhalten des freien Cholesterins.

Die Cholesterinsynthese in der Leber wird nur durch wesentlich höhere Tetrachlorkohlenstoff-Dosen als die in diesen Untersuchungen angewandten geringfügig und lediglich für kurze Zeit gehemmt (77). Demnach müßte freies Cholesterin unter der Annahme des gestörten Veresterungsprozesses in der Leber sogar vermehrt verfügbar sein. Der freie Alkohol ist nun nicht, wie das bei den Estern der Fall ist, an definierte Lipoproteine gebunden, sondern kann sich frei zwischen den verschiedenen Lipoproteinen bewegen (71). Die Abnahme der Ausschüttung der "high density lipoproteins" dürfte also keine limitierende Bedeutung für die Sekretion des freien Cholesterins ins Serum besitzen. Da in der Leber nun in den ersten 15 Stunden nach der Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff eine leichte Verminderung des Gehaltes an freiem Cholesterin auftritt, wäre denkbar, daß das freie Cholesterin sogar verstärkt ins Serum ausgeschwemmt würde, vielleicht zur Erhaltung eines bestimmten Gesamtcholesterinspiegels im Sinne einer homöostatischen Regulation. Mit Restitution des Veresterungsprozesses würde der Anteil an verfügbarem freiem Cholesterin wieder abnehmen, die Ausschüttung sich wieder normalisieren.

Die Diskussion der Ergebnisse der Tetrachlorkohlenstoff-Versuche hat mit Deutlichkeit gezeigt, wie differenziert der Stoffwechsel der Cholesterinester zusammengesetzt ist, und wie komplex sich das pathophysiologische Geschehen darbietet. Mit Hilfe dieser Versuchsanordnung war es möglich, dem Mechanismus

der Esterveränderungen bei Leberparenchymschädigung von einer Seite her näher zu kommen und einige Aspekte zur Deutung der Befunde am leberkranken Patienten zu gewinnen.

II. Teilhepatektomieversuche

Den eigenen Ergebnissen vorangestellt sei wieder eine kurze Betrachtung der in der Literatur beschriebenen, für die Deutung der eigenen Befunde wesentlichen morphologischen und histochemischen Veränderungen während der Leberregeneration nach Zwei-Drittel-Hepatektomie.

In den ersten 24 Stunden nach partieller Hepatektomie zeigt sich lediglich eine Volumenzunahme der Leberzellen und -zellkerne in der Restleber (31), erst nach dieser Latenzperiode beginnt am zweiten Tag die mitotische Aktivität (31,2), steigt abrupt in die Höhe und hat einen ausgesprochenen Gipfelpunkt am Ende des zweiten Tages (2). Dadurch kommt es am zweiten Tag zu einer raschen Gewichtszunahme der Restleber (11), so daß sich nach drei Tagen das Gewicht der regenerierenden Leber etwa verdoppelt hat (108). Diese Verhältnisse finden sich in den eigenen Versuchen bestätigt. Zu keinem Zeitpunkt nach der Resektion können im Leberparenchym Nekrosen nachgewiesen werden (31). Es wird also in dieser Versuchsanordnung tatsächlich ein reiner Regenerationsprozess beobachtet.

Für die in den ersten beiden Tagen auffallende, am 48-Stunden-Punkt besonders ausgeprägte Blässe der Restleber bis zur Lehmfarbe ist zu einem Teil eine starke Minderung des Blutgehaltes infolge der Zellvolumenvermehrung mit Einengung der Sinusoide (31) verantwortlich zu machen, im wesentlichen aber eine massive Fettinfiltration (31,90,60,78), die bereits nach 10 Stunden ihren Höhepunkt erreicht hat (31,78). Für die ersten 48 Stunden nach der Operation scheint eine Alteration der Mitochondrien vorzuliegen: Verschiedene oxydative Enzyme werden in verringerter Konzentration gefunden (58,60), aber auch die Mitochondrienzahl ist in der überstürzend sich teilenden Zelle vermindert (1).

Etwa sieben Tage nach der Teilhepatektomie haben sich Lebergewicht und chemische Zusammensetzung wieder annähernd normalisiert (108).

Eigene Untersuchungen an Cholesterin und Cholesterinestern

Da die resezierten ventralen Leberlappen die Bezugswerte für die Beurteilung der Veränderungen in den entsprechenden Restlebern liefern sollten, mußte zunächst die Identität der ventralen und dorsalen Leberlappen hinsichtlich ihres Cholesteringehaltes und der Verteilung der Esterfraktionen nachgewiesen werden. In der Tat zeigte eine getrennte Analyse der ventralen und dorsalen Lappen von fünf normalen Lebern weitgehende Übereinstimmung.

Die Veränderungen im Serum nach Teilhepatektomie im Vergleich mit den nur laparatomisierten Kontrolltieren sind in den Abbildungen 8 und 9 wiedergegeben. Der Serum-Esterquotient sinkt nach partieller Leberexstirpation ab, hat ein Minimum nach 48 Stunden und steigt danach wieder an. Demgegenüber fallen die Absolutwerte des Estercholesterins nicht eindeutig aus dem Normbereich heraus. Die Abnahme des Esterquotienten bei den Versuchstieren ist also vornehmlich verursacht durch eine Erhöhung des freien Cholesterins in den ersten beiden Tagen.

Die Kontrolltiere halten ihren Esterquotienten dagegen völlig normal.

Die Verteilung der Esterfraktionen (Abbildung 9), die bei den Kontrolltieren konstant bleibt, zeigt bei den teilhepatektomisierten Tieren trotz der kaum veränderten Gesamtesterwerte ganz beträchtliche Verschiebungen. Die Arachidonsäureester im Serum vermindern sich bis zum 48-Stunden-Punkt von 56 % auf 42 %, um danach langsam wieder zu den Ausgangswerten zurückzukehren. Einen diesen TF-Veränderungen gegensinnigen Verlauf beobachtet man an den übrigen Fraktionen: GF, besonders aber MF und DF sind nach 48 Stunden eindeutig vermehrt und sinken danach wieder zur Norm ab.

Im Gegensatz zu den Tetrachlorkohlenstoff-Versuchen tritt nach Teilhepatektomie im Serum also nur ein signifikanter Sturz der Arachidonsäureester auf, während die Werte der übrigen Ester, auch und besonders der Linolsäureester, angehoben sind.

Welche Veränderungen stehen den beschriebenen Serumbefunden nun in der Leber gegenüber? Der Esterquotient der Restlebern (Abbildung 10) zeigt sich während der ganzen Versuchsdauer bei jedem einzelnen Tier (mit nur einer Ausnahme nach 72 Stunden) gegenüber den Werten in den zugehörigen exstirpierten Leberlappen erhöht; eine signifikante Zunahme nicht nur im Vergleich mit den jeweiligen Ausgangswerten, sondern auch mit den Normalwerten und den Kontrollwerten ist am 48-Stunden-Punkt festzustellen. Diese massive Esteranhäufung am 48-Stunden-Punkt (siehe Tabelle III), die zu durchschnittlicher Steigerung der Werte auf ca. 600% der Ausgangswerte führt, findet sich also zur Zeit der maximalen Regenerationsaktivität. Das freie Cholesterin ist in den ersten beiden Tagen gegenüber den Ausgangswerten leicht erniedrigt.

Das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Esterfraktionen bis zum 48-Stunden-Punkt ist aus der Tabelle III abzulesen: Die TF-Fraktion weist nach 48 Stunden, also zur Zeit ihrer maximalen Erniedrigung im Serum, eine mehr als 50 % betragende Verminderung ihres relativen Anteiles an den Gesamtestern auf, während die DF-Fraktion ihren prozentualen Anteil nicht verändert, MF und GF deutliche prozentuale Erhöhung zeigen. Betrachtet man indessen die Absolutwerte (ebenfalls Tabelle III), so wird deutlich, daß zwar auch TF absolut zunimmt, DF und vor allem MF und GF dagegen ungleich starker ansteigen. (Der Tabelle III sind die mittleren prozentualen Steigerungen der Einzelfraktionen gegenüber ihren Ausgangswerten zu entnehmen). Die Abbildung 11 veranschaulicht diese Verhältnisse für die einzelnen Absolutwerte von TF und MF.

Setzt man den gesamten absoluten Esterzuwachs (Mittelwert) bis zum 48-Stunden-Punkt gleich 100 %, berechnet die absoluten Zuwachsraten der einzelnen Fraktionen (Mittelwerte) und setzt sie in prozentuale Relation zum Gesamtsterzuwachs (s. Tabelle III), so ergibt sich (Abbildung 12), daß für die massive Estersteigerung in der Leber in den ersten beiden Tagen ganz wesentlich die Leberhauptfraktion MF mit 45 % Zuwachs verantwortlich ist, gefolgt von GF und DF, während TF mit 7,3 % im Mittel nur in sehr geringem Umfang an dieser Estererhöhung beteiligt ist.

Berechnet man nun noch die Gesamtmengen des Cholesterins

und der verschiedenen Esterfraktionen in den Restlebern, setzt die in normalen Lebern angetroffenen Gesamtmengen gleich 100 %, so ergibt sich eine recht übersichtliche Darstellung der Ergebnisse, wie sie die Abbildung 13 zeigt: Das freie Cholesterin verläuft parallel der Gewichtszunahme, TF steigt in den ersten 24 Stunden kaum an, am zweiten Tag dagegen stärker, um nach einem Rückfall 72 Stunden post operationem nach 96 Stunden schließlich die Normalmengen zu erreichen; die DF-, MF- und vor allem die GF-Fraktion zeigen am zweiten Tag eine enorme Anschoppung weit über die Normalmengen hinaus; bis zum Ende des dritten Tages kehren die Werte in die Normalbereiche zurück. Aus der Darstellung geht hervor, daß die massive Anhäufung von GF, MF und DF in die Zeit der stärksten Gewichtszunahme der Restleber fällt.

Um die Befunde an den Cholesterinesterfettsäuren in Beziehung zum gesamten Fettsäurepool der Leber betrachten zu können, wurden für die exstirpierten Leberlappen und die entsprechenden 48-Stunden-Restlebern von vier Tieren eine Bestimmung der Gesamtfettsäuren sowie eine gaschromatographische Analyse des Gesamtfettsäuremusters durchgeführt. Die Zusammenstellung der Ergebnisse bringt die Tabelle IV.

Die beträchtliche Zunahme der Gesamtfettsäuren war nach der oben angeführten Literatur zu erwarten. Die Fettsäureverteilung 48 Stunden nach Teilhepatektomie zeigt ein starkes relatives Absinken der Arachidonsäure (20:4), die aber in Absolutwerten gesehen keine eindeutige Veränderung ihrer Konzentration gegenüber den Ausgangswerten erfährt und damit nicht am Gesamtfettsäurezuwachs beteiligt ist. Dasselbe gilt für die Stearinsäure (18:0). Deutlichen absoluten Zuwachs, dabei in Relativprozenten im Bereich der Ausgangswerte bleibend, zeigen die gesättigten und einfach ungesättigten C 14- und C 16-Säuren, unter ihnen die Palmitinsäure (16:0), während die Ölsäure (18:1) relativ und absolut weitaus am stärksten vermehrt gefunden wird, gefolgt von der ebenfalls bemerkenswert angestiegenen essentiellen Linolsäure (18:2). An dem absoluten Gesamtfettsäurezuwachs sind im wesentlichen nur die Ölsäure (mit 46,3 %), die Linolsäure (24,9 %) und die Palmitinsäure (22,5 %) beteiligt, während die Arachidonsäure

überhaupt nicht ins Gewicht fällt.

Damit besteht eine beachtliche Parallelität des Verhaltens der Gesamtfettsäuren und der Cholesterinesterfettsäuren (s. Abbildung 12) in den ersten beiden Tagen nach Teilhepatektomie. Lediglich die Arachidonsäure nimmt eine Sonderstellung ein, indem sie in den Gesamtfettsäuren nahezu gar nicht vermehrt ist, aber doch in den Cholesterinestern nach 48 Stunden einen deutlichen Anstieg zeigt.

Diskussion der Ergebnisse der Teilhepatektomieversuche:

Während die Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung zu einer echten toxischen Schädigung der Leberzellen führt, hinterläßt die Teilhepatektomie völlig normales Parenchym. Es ist deshalb zu erwarten, daß die Pathogenese der Verfettung und Cholesterinester Veränderungen nach Teilhepatektomie im wesentlichen durch einen anderen Mechanismus bestimmt wird. Für diese Annahme sprechen bereits die Unterschiede in den Befunden gegenüber den Tetrachlorkohlenstoff-Ergebnissen: Neben dem Ausbleiben eines Estersturzes im Serum, dem Auftreten einer massiven Esteranhäufung in der Leber mit starken relativen Verschiebungen zwischen den verschiedenen Estern, erscheint besonders bedeutungsvoll, daß die DF-Fraktion im Serum nach Teilhepatektomie kein mit der TF-Fraktion gleichsinniges Verhalten zeigt, sondern parallel MF und GF eine deutliche Vermehrung erfährt.

48 Stunden nach Teilhepatektomie findet man die Restleber stark verfettet. Der Fettsäuregehalt der Restleber beträgt im Durchschnitt das Doppelte der Norm. Dieser Anstieg kommt sicher zum größten Teil durch Fettsäureeinstrom aus den Fettdepots zustande, denn die essentielle Linolsäure, die nicht in der Leber synthetisiert werden kann, macht immerhin ca. 25 % der über den Normalgehalt angehäuften Fettsäuren aus. Die Arachidonsäure ist nicht kennenswert an diesem Fettsäurezuwachs beteiligt, Ölsäure dagegen mit ca. 46 %, Palmitinsäure mit ca. 23 %. Dieses Muster des Fettsäurezuwachses ist dem des Rattendeptfettes recht ähnlich: 22-23 % Linolsäure, 30-34 % Ölsäure, ca. 30 % Palmitinsäure (10). Allerdings ist der Zuwachs an Ölsäure vergleichsweise sehr hoch: Es ist denkbar, daß ein Teil der Ölsäure der Eigenproduktion der Leber entstammt.

Ob der Fettsäureanstrom von den Depots normal hoch ist oder ob nach Ausfall von zwei Dritteln des Lebergewebes mehr Fettsäuren mobilisiert werden, ist nicht zu beurteilen. Jedenfalls ist die kleine Restleber nicht fähig, den Fettsäureeinstrom zu bewältigen. Der limitierende Faktor scheint der oxydative Abbau der Fettsäuren zu sein, wie auch auf Grund der in der Literatur beschriebenen gestörten Mitochondrienfunktion zu vermuten wäre. Indessen kann für die Fettsäureanhäufung auf keinen Fall eine Hemmung der Lipoidausschüttung ins Serum verantwortlich gemacht werden, da nach SECKFORT et al. (78) die Werte der "gesamten veresterten Fettsäuren" (sämtlicher Lipide) im Serum nach Teilhepatektomie nur geringfügig absinken: Die Zellen der Restleber müssen also im Gegenteil ihre Lipide sogar mit stark erhöhter Aktivität ins Serum ausschütten. Eine gesteigerte Sekretion muß auch speziell für die Cholesterinester angenommen werden, deren Serumkonzentration trotz der Zwei-Drittel-Resektion der Leber nicht signifikant vermindert ist. Eine Lipoproteidstoffwechselstörung, wie sie für die Tetrachlorkohlenstoff-Ergebnisse diskutiert wurde, kann also sicher ausgeschlossen werden.

Während am 48-Stunden-Punkt die Gesamtfettsäuren der Leber auf ca. 200 % der Norm erhöht sind, liegt der Gehalt der Cholesterinester bei ca. 600 % der Ausgangswerte. Dieser trotz gesteigerter Sekretion auftretenden Esteranschoppung, die etwa das Doppelte der absoluten Gesamtmenge der Cholesterinester einer intakten Leber erreicht, kann also nur eine stark überschießende Cholesterinsynthese und - veresterung zugrunde liegen, vielleicht im Sinne einer weit über das Ziel hinaus gehenden Regulation der Serumcholesterinhomöostase (79). Das durch die erhöhte Synthese verfügbare Cholesterin wird vorzugsweise verestert, denn der Gehalt an freiem Cholesterin in der Leber sinkt sogar ab. Im Serum dagegen findet man in den ersten beiden Tagen einen erhöhten Spiegel des freien Cholesterins. Die Sekretion des freien Cholesterins scheint also noch stärker angefacht zu sein als die der Ester. Folge ist der Abfall des Esterquotienten im Serum. (Eine stärkere Sekretion von freiem Cholesterin gegenüber dem veresterten konnte auch nach Tetrachlorkohlenstoff festgestellt werden.)

Betrachtet man die prozentuale Verteilung der Esterfraktionen in dem über die Norm angehäuften Anteil des Estercholesterins der Leber (dem eigentlichen Esterzuwachs), so zeigt sich eine beachtliche Kongruenz mit dem Muster des Gesamtfettsäurezuwachses der Leber: 45 % MF - 46 % Ölsäure, 25 % GF - 23 % Palmitinsäure, 22 % DF - 25 % Linolsäure. Während Arachidonsäure nur mit ca. 2 % an der Fettsäurevermehrung beteiligt ist, stellt TF immerhin noch 7,3 % des Esterüberschusses dar. Es wird also die vorhandene Arachidonsäure ausgesprochen selektiv in die Cholesterinester eingebaut, ein Hinweis auf die grosse Bedeutung der Ester als Träger der mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Für die Synthese der übrigen Esterfraktionen darf man indessen annehmen, daß sie tatsächlich entsprechend dem veränderten Fettsäureangebot in der Leber erfolgt. Die Bedeutung des Fettsäuremischungsverhältnisses in der Leber für das Fettsäuremuster der Cholesterinester geht bereits aus den Untersuchungen von ZÖLLNER (104) und KLENK (44) an Patienten mit Refsum-Syndrom hervor: Eine in der Leber der Patienten angereicherte atypische Fettsäure (Phytansäure) taucht auch in großer Menge in den Cholesterinestern von Leber und Serum auf.

MF ist in der normalen Leber die größte Esterfraktion, die Cholesterinesterase der Leber ist spezifisch eingestellt auf die Bildung von Cholesteryloleat (27,28). Wenn dazu noch das Ölsäureangebot im Pool der Restleber alle anderen Fettsäuren übertrifft, wird verständlich, daß MF den größten absoluten Anteil am Gesamtesterzuwachs hat. Daß indessen GF im Vergleich mit den anderen Estern den stärksten relativen Anstieg, bezogen auf den jeweiligen Ausgangswert der Fraktionen, zu verzeichnen hat (805 %, gegenüber MF: 744 %, DF: 634 % und TF: 261 %), bleibt unklar. Denn 1.) ist der absolute und relative Zuwachs an Palmitinsäure geringer als der der Linolsäure, DF aber zeigt dennoch einen geringeren relativen Zuwachs als GF; 2.) fand GOODMAN (28) für die relative Synthesegeschwindigkeit der einzelnen Fraktionen in der normalen Leber folgende Reihenfolge: MF > DF > TF > GF. GF würde demnach die langsamste Syntheserate besitzen. Dieser Widerspruch zu der Tatsache, daß GF nach Teilhepatektomie trotzdem relativ schneller ansteigt als die anderen Fraktionen, läßt sich nicht lösen.

Im übrigen spiegelt sich das veränderte Estermuster der Leber sehr deutlich im Serum. TF ist die einzige Fraktion, deren

Serumkonzentration bis 48 Stunden nach der Operation absinkt, während alle übrigen Ester eine Anhebung ihres Serumspiegels erfahren. Während also die relativ geringe TF-Zunahme in der Leber (am ersten Tag nur auf ca. 38 %, am zweiten Tag auf ca. 90 % des normalen Gesamtgehaltes einer intakten Leber) zur Homöostase der TF-Serumkonzentration nicht ausreicht, führt die abundante Neusynthese von GF, MF und DF sogar zu einem erhöhten Serumgehalt an diesen Fraktionen.

Die Veränderungen im Serum zeigen übrigens nachdrücklich, wie unergiebig die ausschließliche Betrachtung der Gesamtesterkonzentration sein kann: Obwohl ein eindeutiger "TF-Sturz" vorliegt, kommt dieser durch den Anstieg der übrigen Ester in der Gesamtkonzentration nicht zum Ausdruck.

Die Ergebnisse der Teilhepatektomieversuche weisen deutlich darauf hin, welch einen wesentlichen Einfluß das Mischungsverhältnis der Leberfettsäuren für die Bildung der verschiedenen Cholesterinester hat, und welch große Bedeutung der Einstrom von Depotfettsäuren für dieses Mischungsverhältnis besitzt.

III. Untersuchungen an menschlichen Lebern:

Die Ergebnisse sind in der Tabelle V zusammengestellt. Die Normalwerte für das Lebercholesterin liegen in dem aus der Literatur (13,84) bekannten Bereich. Über die Verteilung der Fettsäuren in den Lebercholesterinestern scheint bisher lediglich eine japanische Arbeit (88) mit der gaschromatographischen Analyse von je drei Fettlebern und Kontroll-Lebern (autoptisches Material) publiziert zu sein. Die dort mitgeteilten Normalwerte für die Linolsäureester liegen niedriger als die in der Tabelle V dargestellten, dagegen ist in der japanischen Untersuchung der Anteil von Monoen- und gesättigten Fettsäuren in den Cholesterinestern wesentlich größer. Inwieweit eine andere Ernährung oder auch die Methodik für diese Differenzen verantwortlich zu machen sind, kann nicht entschieden werden. Immerhin sind die untereinander sehr abweichenden japanischen Kontrollwerte in zwei der drei Fälle aus Lebern chronisch Kranker höheren Lebensalters (Magen-Carcinom, Mitral-Insuffizienz) gewonnen, so daß diese Werte nicht unbedingt als Lebernnormalwerte gelten dürften. Die in der Tabelle V angeführten Normalwerte dagegen stammen von vorher gesunden, durch akute Ereignisse ad exitum gekommenen Menschen. Die ermittelten Lebernnormalwerte zeigen Ähnlichkeit mit den normalen Serumwerten für die Fettsäureverteilung in den Cholesterinestern (99,76,47). Die Esterhauptfraktion im Serum wie in der Leber stellen die Linolsäureester dar. (Die DF-Werte in der Leber liegen allerdings niedriger als im Serum.)

In den pathologisch veränderten Lebern mit unterschiedlichem Verfettungsgrad zeigt das Gesamtcholesterin in vier von acht Fällen eine deutliche Erhöhung gegenüber den normalen Vergleichswerten: Leber mit Stauungshyperämie Nr. 787, Leberdystrophie Nr. 780, hepatozelluläres Carcinom (Pat. K) sowie eine Lebercirrhose mit geringer Verfettung (ebenfalls Pat. K), während in einer morphologisch ausgeprägteren, stärker verfetteten Lebercirrhose (Nr. 781) das Gesamtcholesterin eher erniedrigt ist. Eine andere hochgradig ausgebildete Cirrhose (Pat. F) zeigt hingegen normale Gesamtcholesterinwerte.

Deutlich erhöhte Esterquotienten finden sich vornehmlich in den Lebern mit sehr starker Verfettung: Nr. 780, 781, Pat. F.,

Pat. K. - Carcinomanteil. In keinem der untersuchten Fälle dagegen ist der Esterquotient gegenüber den Normalwerten signifikant vermindert.

Besonders bemerkenswert erscheint das von cirrhotischen und carcinomatösen Anteilen derselben Leber (Pat. K.) gewonnene Ergebnis: In den maligne entarteten, massiv verfetteten Bezirken kommt es zu einer ausgesprochenen Erhöhung des Cholesterins, wobei die Ester auf etwa das Fünffache der Werte im Cirrhoseanteil angestiegen sind.

In allen pathologisch veränderten und verfetteten Lebern ist parallel den Serumbefunden bei Leberkranken (99) eine eindeutige Verminderung der Linolsäureester gegenüber den Normalwerten festzustellen. (Auch in der zitierten japanischen Arbeit ist diese Veränderung für die dort untersuchten drei Lebern beschrieben.) Die in den relativen Prozentsätzen kleinste DF-Fraktion (19 %) zeigt das hepatozelluläre Carcinom. (Bei Übersetzung in die Absolutwerte hat sich aber auch diese Fraktion im Vergleich mit dem cirrhotischen Anteil derselben Leber entsprechend den Gesamtestern um etwa das Fünffache vermehrt.)

Die TF-Fraktion verändert sich nicht in charakteristischer Weise. PF läßt sich wegen seines geringen Anteiles an den Estern methodisch nicht exakt genug erfassen. Der gemeinsame Anteil an GF und MF ist in allen pathologischen Lebern deutlich vermehrt. Dabei zeigt MF in drei Fällen normale Werte, während GF nur in einem Fall (Cirrhose Pat. K.) im Normbereich liegt, in den übrigen Lebern aber signifikant erhöht ist.

Diskussion:

Schon POLLI und RATTI (1950) (65) konnten mit Hilfe der Jodzahl der flüssigen Fettsäuren einen verminderten Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in pathologisch veränderten Lebern feststellen. Neuere Befunde bestätigen diese Ergebnisse: Die relative Abnahme des Linolsäuregehaltes, wie sie in den Cholesterinestern sichtbar wird, trifft nach den gaschromatischen Untersuchungen von TAKAHASHI (88) und SCHÖN (74,75) auch für die Leberphospholipide und -neutralfette zu.

Für diese Verschiebung des Fettsäuremusters zu Ungunsten der Linolsäure wird von den genannten Autoren im wesentlichen eine Verwertungsstörung der Leber für die einströmenden Depot-

fettsäuren verantwortlich gemacht und der Verfettungsprozess in der kranken Leber somit als "infiltrative Verfettung" (74, 75) gedeutet. Die Verfettung äußert sich vornehmlich in einer Triglyceridvermehrung (88,84) analog den Verhältnissen nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung im Tierexperiment. Eine Erhöhung des Esterquotienten ist im eigenen Material nur an den stark verfetteten Lebern nachzuweisen. Erhöhte Esterquotienten aber fanden sich auch nach Teilhepatektomie der Ratte in den Restlebern: es ist denkbar, daß in Lebern mit starkem Zelluntergang die nicht geschädigten Zellen eine überschießende Cholesterinsynthese und -veresterung vornehmen zur homöostatischen Regulation des Serumcholesterins, wodurch eine Esteranschoppung, wie sie nach Teilhepatektomie beobachtet wurde, zustande kommen könnte.

Der Linolsäureanteil in den "freien Fettsäuren" (FFS) des Serums, der Transportform der Depotfettsäuren, beträgt nach SCHRADE et al. (76) ca. 13 %. Die gesättigten Fettsäuren (16 : 0 ca. 28 %, 18 : 0 ca. 15 %) und Monoenfettsäuren (16 : 1 ca. 7 %, 18 : 1 ca. 26 %) besitzen den weitaus größten Anteil an dieser Serumlipoidfraktion. (Während in den FFS die gesättigten - über die Monoenfettsäuren dominieren, ist das Verhältnis in den Depots deutlich umgekehrt (37,46). Die gesättigten Fettsäuren müßten demnach bevorzugt aus den Depots ausgeschwemmt werden, es könnte allerdings auch die Extraktion der Monoenfettsäuren durch die Organe stärker sein als die der gesättigten Fettsäuren.)

Eine Verwertungsstörung für derart zusammengesetzte, in die Leber einströmende Fettsäuren und ihre Anhäufung in der Zelle muß zu einer relativen Abnahme der Linolsäure und einer Zunahme der gesättigten - und Monoenfettsäuren im Leberpool führen. Die große Bedeutung des veränderten Fettsäuremischungsverhältnisses im Pool für die Veresterung, speziell die Bildung der verschiedenen Cholesterinester, ging deutlich aus der Erörterung der Teilhepatektomieergebnisse hervor. Die relative DF-Abnahme in der Leber könnte somit durch eine relative Verminderung der Linolsäure im Leberpool erklärt werden. Die Serumesterveränderungen könnten, wie in den Teilhepatektomieversuchen, als direkte Folge des verän-

derten Estermusters in der Leber aufgefaßt werden. Indessen wäre eine zusätzliche Beteiligung der bei den Tetrachlorkohlenstoff-Versuchen diskutierten Mechanismen an der Entwicklung dieser Esterverschiebungen im Serum durchaus möglich. So könnten folgende Faktoren die DF-Verminderung im Serum wesentlich mitbestimmen: Der von LINDGREN et al. (47) im Serum von Leberkranken beschriebene verminderte Cholesteringehalt der vorzugsweise die DF-Ester transportierenden Lipoproteine höherer Dichte sowie die von HAVEL et al. (34) und F.A. PESOLD (61) gefundene Abnahme dieser Lipoproteinfraktion in ihrer Gesamtheit, auf der anderen Seite die vorwiegende Ausschüttung der Lipoproteine niederer Dichte, welche als Hauptesterfraktionen MF und GF enthalten (47). Auch die bei den Tetrachlorkohlenstoff-Ergebnissen erörterte gestörte Aufnahme der Lymphester durch die Leber könnte vielleicht einen Beitrag für die Erklärung der DF-Verminderung im Serum liefern: Wie Analysen der Ductus thoracicus-Lymphe (4) zeigen, dominieren auch in den menschlichen Lymphestern Mono- und gesättigte Fettsäuren.

Aus den Teilhepatektomieergebnissen war abzuleiten, daß die Veränderungen der einzelnen Esterfraktionen im Serum nicht gebunden sind an Veränderungen der Gesamtesterkonzentration. Es ist deshalb verständlich, daß bei Lebererkrankungen relative Verschiebungen der einzelnen Ester wesentlich häufiger anzutreffen sind als Veränderung des Esterquotienten (s. Serumuntersuchungen von ZÖLLNER (99)).

Wie die Erörterung der Ergebnisse zeigt, haben sich die in dieser Arbeit benutzten experimentellen Anordnungen gut bewährt. Mit ihrer Hilfe ließen sich die Verhältnisse am leberkranken Patienten brauchbar reproduzieren.

Die durch diese Versuche gewonnenen Einblicke in die Pathophysiologie der Cholesterinester, insbesondere der Ester der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, haben Vorstellungen ermöglicht, welche die Cholesterinveränderungen bei den Leberkrankheiten des Menschen besser verstehen lassen.

Tabelle II: KONZENTRATIONSGRADENTEN (KG) LEBEN: SERUM FÜR
CHOLESTERINARACHIDONAT UND -LINOLAT.

Die in der Tabelle aufgeführten Werte sind
Mittelwerte ($\bar{x}$).

Die Berechnung des KG ist im Text erläutert
(S.21).

Stunden nach Tetrachlor- kohlenstoff	Normal- tiere 0	5 ^h	10 ^h	15 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Zahl der Einzelwerte	13	7	8	5	7	4	4
KG Arachidonat	0.57	0.80	1.47	1.74	1.09	1.41	0.99
KG Linolat	1.59	2.14	3.34	4.56	2.31	1.55	1.05

ektomierten Leberanteilen (EKTOM.) und zugehörigen Restlebern (REST) 48 Stunden nach Teilhepatektomie. Die Absolutwerte (mg %) beziehen sich auf das Frischgewicht der Leber.

LENGUAGIA STERILNOSTE

TIER Nr.	LEBSTERTEIL	GESAMT- CHOLESTE- RIN mg%	FREIES CHOLESTE- RIN mg%	ESTER- CHOLESTE- RIN mg%	ESTER- QUOTIENT %	FF	TP	DF	MF	GP				
						rel. % mg%	rel. % mg%	rel. % mg%	rel. % mg%	rel. % mg%				
1	EKTOM. REST	338 349	298 281	40 118	11,8 33,8	4,0 2,1	21,2 12,5	8,5 14,8	20,5 22,1	8,2 14,0	34,5 48,4	13,8 22,3	19,8 26,2	7,9
2	EKTOM. REST	308 371	292 229	16 142	5,2 38,3	3,2 0,7	32,3 12,7	5,2 18,0	21,5 23,2	3,4 33,0	29,4 37,6	4,7 53,5	13,6 25,8	2,2 36,5
3	EKTOM. REST	342 357	324 217	18 140	5,3 39,2	1,9 0,5	21,7 3,7	3,9 5,2	24,5 24,5	4,4 34,3	33,6 43,7	6,0 61,2	18,3 27,6	3,4 38,6
4	EKTOM. REST	326 362	290 289	36 273	11,0 48,6	1,2 0,7	20,9 7,4	7,5 20,2	16,9 19,2	6,1 52,4	42,0 48,3	15,2 132,0	19,0 24,4	6,8 66,5
5	EKTOM. REST	344 422	308 270	36 152	10,5 36,0	2,3 1,1	23,2 11,0	8,4 16,7	24,2 23,8	8,7 36,2	33,3 42,3	12,0 64,3	17,0 21,8	6,1 33,1
6	EKTOM. REST	313 432	296 265	17 167	5,5 38,7	1,8 1,3	23,7 13,9	4,0 23,2	21,4 21,5	3,6 36,0	37,2 43,2	6,3 72,2	15,9 20,1	2,8 33,4
MITTEL- WERTE (x)	EKTOM. REST	328,5 415,5	301,3 250,2	27,2 165,3	8,2 39,1	2,4 1,1	23,8 10,2	6,3 16,4	21,5 22,4	5,7 36,3	35,0 42,7	9,7 71,9	17,3 23,6	4,9 39,1

MITTELWERTE DER RESTLEBEN IN PROZENTEN DER MITTELWERTE DER EKOTOMIERTEN ANTEILE (100%)

$$\bar{x}_{\text{REST}} (\text{mg}\%) - \bar{x}_{\text{EKTOM}} (\text{mg}\%) =$$

XREST (mg%) - x EK10M (mg%) =
48 STUNDEN-ZUWACHS (mg%)

ZUWACHS DER ESTERFRAKTIONEN IN % DES
GESAMTESTERZUWACHSES

Abbildung IV. Gesamtfettsäuren und Verteilung der verschiedenen Fettsäuren (in Relativ-% und mg%) in exaktierten Leberanteilen (EXOTOM.) und zugehörigen Restlebern (REST) 48 Stunden nach Teilhepatektomie. Die Fettsäuren sind durch Zahl der Kohlenstoffatome und Zahl der Doppelbindungen charakterisiert (nC : n).

8-Stun- den-Tier r.	LEBER- TEIL	GESAMTE FETTSÄUREN (bezogen auf Triolein)	FETTSÄUREMUSTER DER GESAMTFETTSÄUREN DER LEBER																		
			14:0 rel%	14:1 rel%	16:0 rel%	16:1 rel%	18:0 rel%	18:1 rel%	18:2 rel%	18:3 rel%	20:4 rel%	22 rel%									
3	EKTOM	0,4	+	17,7	1,1	15,5	13,4	17,0	+	24,8	10,1										
	REST	2,3	+	18,3	2,5	5,7	40,0	22,8	+	5,7	2,7										
4	EKTOM	0,6	30	0,2	10	23,9	1211	3,4	172	11,8	599	22,7	1151	13,0	659	0,3	15	17,5	888	6,6	335
	REST	1,3	202	0,4	62	25,2	3880	5,0	771	4,5	693	39,1	6023	17,9	2753	+	+	6,6	1016	+	+
5	EKTOM	1,0	58	0,4	23	21,1	1221	2,5	145	12,1	701	22,1	1280	19,9	1152	0,9	52	15,2	880	4,8	278
	REST	1,2	86	0,5	36	21,9	1570	2,4	172	8,3	596	28,7	2056	24,4	1751	0,7	50	9,3	667	2,6	186
6	EKTOM	3,9	213	2,2	120	33,2	1811	7,6	415	7,9	432	18,3	1000	16,0	874	0,9	49	8,2	448	1,8	98
	REST	2,6	301	1,5	174	24,3	2808	4,5	521	4,8	556	31,2	3608	22,6	2618	0,9	104	7,6	880	+	+
LITTED-	EKTOM	1,48	100	0,82	51	23,98	1414	3,65	244	11,8	577	19,10	1143	16,48	895	0,7	39	16,42	739	5,82	237
ERTE(̄)	REST	1,85	196	0,80	91	22,40	2752	3,60	488	5,8	617	34,75	3895	21,92	2374	0,5	51	7,3	854	1,32	62
REST in % von EKTOM (= 100%)		209%	196%	178%	195%	200%	107%	340%	265%	130%	116%	26%									
REST-EKTOM = 48- tunden-Zuwachs		5,94%	96m%	40m%	1338m%	244m%	40m%	2752m%	1479m%	12m%	115m%	-175m%									
TWACHS DER EINZ. FETTSÄUREN IN PRO- CENTEN DES GESAMT- FETTSÄUREZUWACH- SES (= 100%)		100%	1,6%	0,7%	22,5%	4,1%	0,7%	46,3%	24,9%	0,2%	1,9%	-2,9%									

Die Absolutwerte (mg %) beziehen sich auf das Leberfrischgewicht.

MATERIAL

MATERIAL	CHOLESTERINWERTE				ESTERFRAKTIONEN (Relativ-%)				
	GESAMTCHO- LESTERIN mg %	FREIES CHO- LESTERIN mg %	ESTERCHO- LESTERIN mg %	ESTER- QUOTIENT %	PF	TF	DF	MF	GF
NORMALE LEBERN									
Normale Leber (♂, Suicid)	327	291	36	11,0	1,7	12,3	44,5	25,5	16,0
Normale Leber (♂, plötzl. Herztod)	275	242	33	12,0	3,7	14,7	43,3	21,5	16,8
Normale Leber (♀, Tod durch Herzstich)	256	224	32	12,5	4,8	11,1	41,1	25,4	17,6
MITTELWERT:	286,0	252,3	33,7	11,8	3,4	12,7	43,0	24,1	16,8
PATHOLOGISCH VERÄNDERTE LEBERN									
788 Akute Hyperämie, diffuse kleintrop- fige Verfettung	280	246	34	12,1	2,4	13,0	38,5	25,6	20,5
786 Stauungshyperämie, diffuse Verfettung	250	225	25	10,0	1,0	14,6	27,5	36,1	20,8
787 Stauungshyperämie, trübe Schwellung	380	325	55	14,5	2,0	8,9	33,6	31,2	24,3
780 Akute gelbe Leber- dystrophie, starke Verfettung	384	293	91	23,7	2,7	20,9	27,6	24,6	24,2
781 Kleinknotige Cirrhose, großtropfige starke Verfettung	216	168	48	22,2	1,5	12,4	30,3	32,0	23,8
Pat.F stark verfettete Cirrhose	299	230	69	23,1	1,4	7,6	30,7	25,0	35,3
Cirrhose, mäßige Verfettung.	400	356	44	11,0	3,0	10,2	19,5	49,1	18,2
Pat.K hepatocelluläres stark verfettetes Ca.	758	545	213	28,1	3,6	13,4	19,0	41,8	22,2



Abbildung 1. CHOLESTERINESTER (■), FREIES CHOLESTERIN (▲) UND ESTERQUOTIENT (●) IM SERUM DER RATTE NACH TETRACHLORKOHLSTOFF-VERGIFTUNG.

Die auf den Kurven liegenden Punkte sind Mittelwerte. Zahl der Einzelwerte (n) jeweils 5 - 8. Für den Esterquotienten am 15 Stunden-Punkt sind die Einzelergebnisse zusätzlich dargestellt. Bei den Normalwerten sind die mittleren quadratischen Abweichungen der Einzelmessungen (sx_i) den Mittelwerten ($\bar{x}$) hinzugefügt. Die Abszisse ist, wie auch in den folgenden Abbildungen der Tetrachlorkohlenstoff-Ergebnisse logarithmisch geteilt.

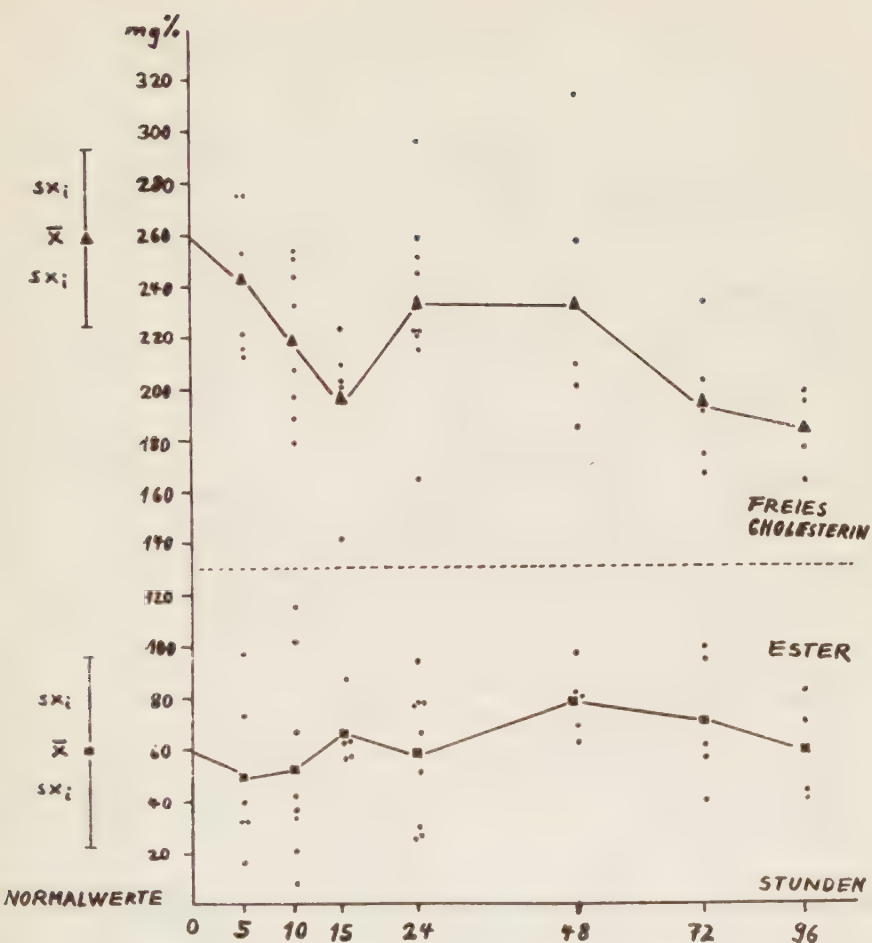


Abbildung 2. CHOLESTERINESTER (■) UND FREIES CHOLESTERIN (▲) IN DER LEBER NACH TETRACHLORKOHLLENSTOFF-VERGIFTUNG.

Der Kurvenverlauf verbindet die Mittelwerte miteinander, die zugehörigen Einzelwerte für die entsprechenden Versuchszeiten sind jeweils in der Vertikalen dargestellt. Normalwerte: siehe Legende zu Abbildung 1.

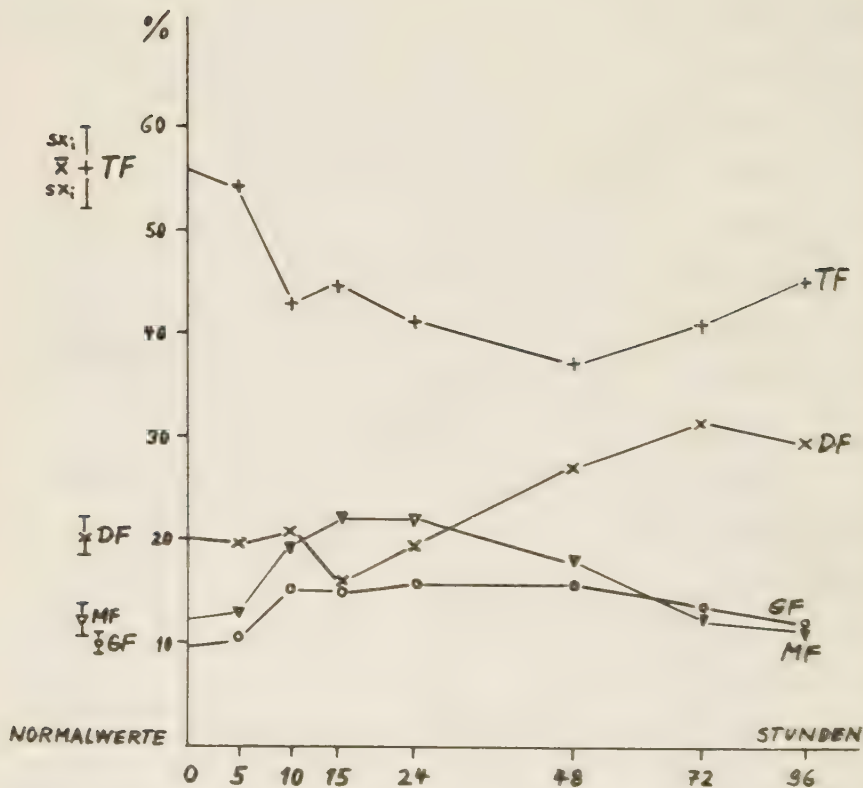


Abbildung 3. CHOLESTERINESTERFRAKTIONEN DES SERUMS NACH TETRACHLOR-KOHLNSTOFF-VERGIFTUNG IN RELATIV-PROZENTEN DER GESAMTESTER.

In der Abbildung sind nur die Mittelwerte ($n = 5 - 6$) dargestellt.

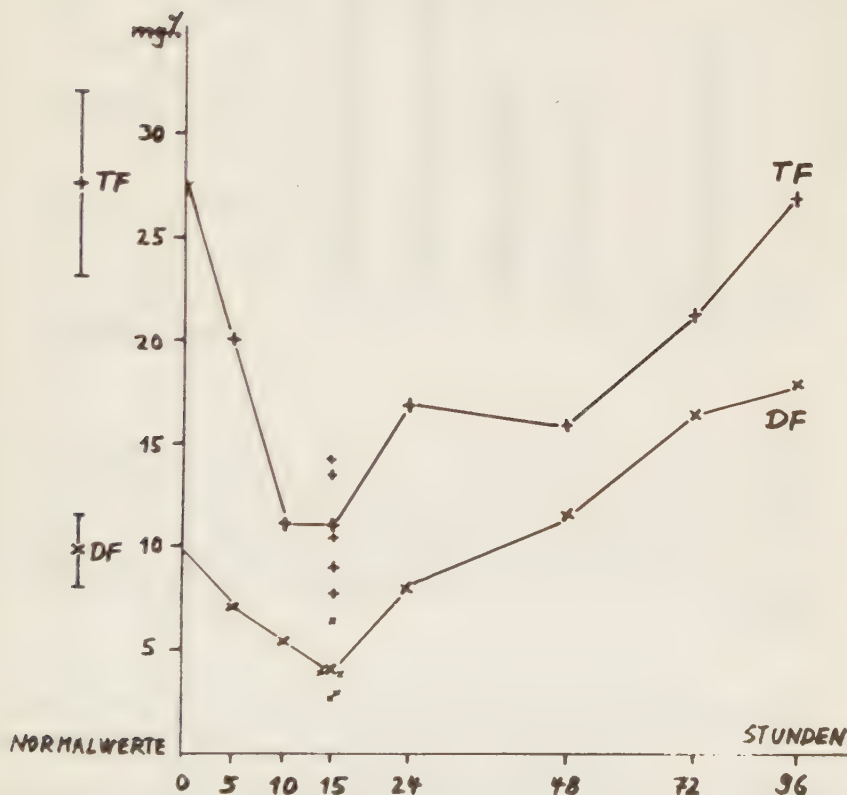


Abbildung 4. CHOLESTERINESTERFRAKTIONEN DES SERUMS NACH TETRACHLOR-KOHLLENSTOFF-VERGIFTUNG IN ABSOLUTEN KONZENTRATIONEN (mg %).

Neben den Mittelwerten (n = 5 - 8) sind nur am 15-Stunden-Punkt die zugehörigen Einzelwerte für TF und DF eingetragen.

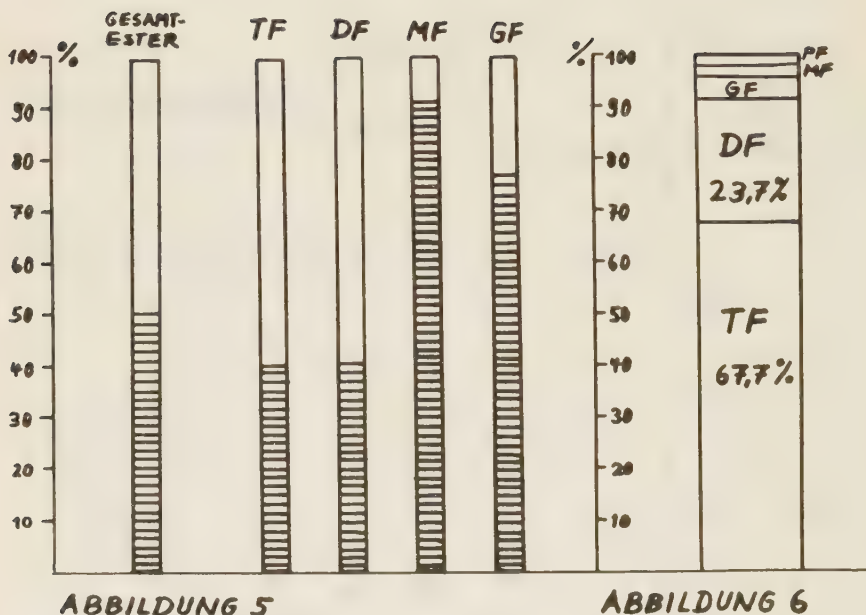


Abbildung 5. GESAMTESTERCHOLESTERIN UND ESTERFRAKTIONEN DES SERUMS 15 STUNDEN NACH TETRACHLORKOHLNSTOFF IN PROZENTEN DER ENTSPRECHENDEN NORMALWERTE (= 100 %).

Der quergestreifte Teil der Säulen entspricht den 15-Stunden-Werten (Mittelwerte), der leere Abschnitt dem Verlust gegenüber der Norm.

Abbildung 6. BETEILIGUNG DER EINZELNEN ESTERFRAKTIONEN AN DER ESTERABNAHME IM SERUM AM 15-STUNDEN-PUNKT NACH TETRACHLORKOHLNSTOFF-VERGIFTUNG.

Die absoluten Verluste der einzelnen Fraktionen sind in Prozenten der Gesamtesterabnahme (= 100 %) dargestellt.

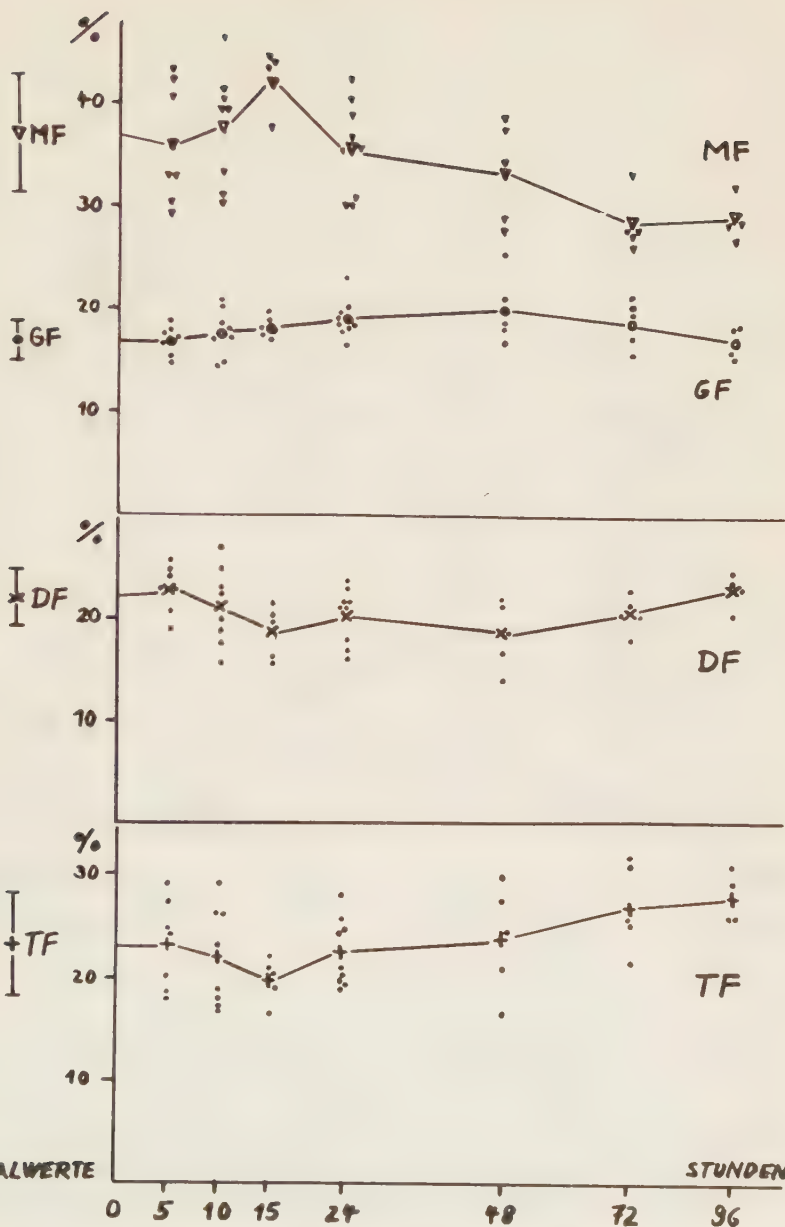


Abbildung 7. CHOLESTERINESTERFRAKTIONEN DER LEBER NACH TETRACHLOR-KOHLNSTOFF-VERGIFTUNG IN PROZENTEN DER GESAMTESTER. Zur Art der graphischen Darstellung siehe Legende zu Abbildung 2.

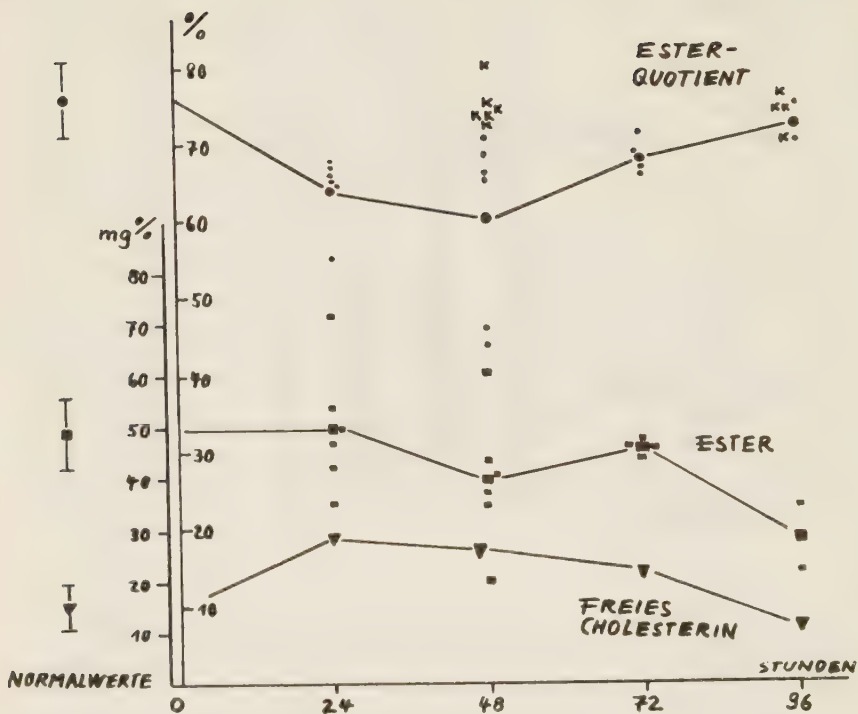


Abbildung 8. CHOLESTERINESTER (■), FREIES CHOLESTERIN (▼) UND ESTERQUOTIENT (●) IM SERUM DER RATTE NACH TEILHEPAT-EKTOMIE.

Die Kurvenverläufe verbinden die Mittelwerte, Einzelwerte sind zusätzlich dargestellt (jeweils in der Vertikalen des zugehörigen Mittelwertes) für den Esterquotienten und das Estercholesterin. Die einzelnen 48 - und 96 - Stunden-Kontrollwerte der scheinoperierten Tiere sind nur für den Esterquotienten eingetragen (k).

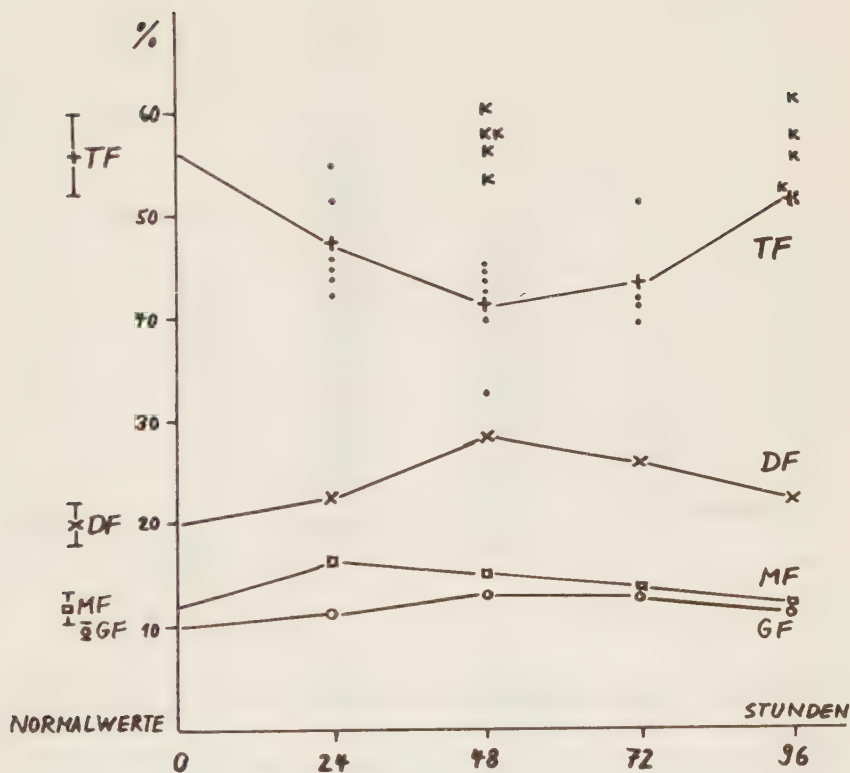


Abbildung 9. CHOLESTERINESTERFRAKTIONEN IN RELATIV-PROZENTEN DER GESAMTESTER IM SERUM DER RATTE NACH TEILHEPATEKTOMIE. Einzelwerte und Kontrollwerte (K) sind nur für die TF-Fraktion eingetragen. (Im übrigen siehe Legende zu Abbildung 8.)

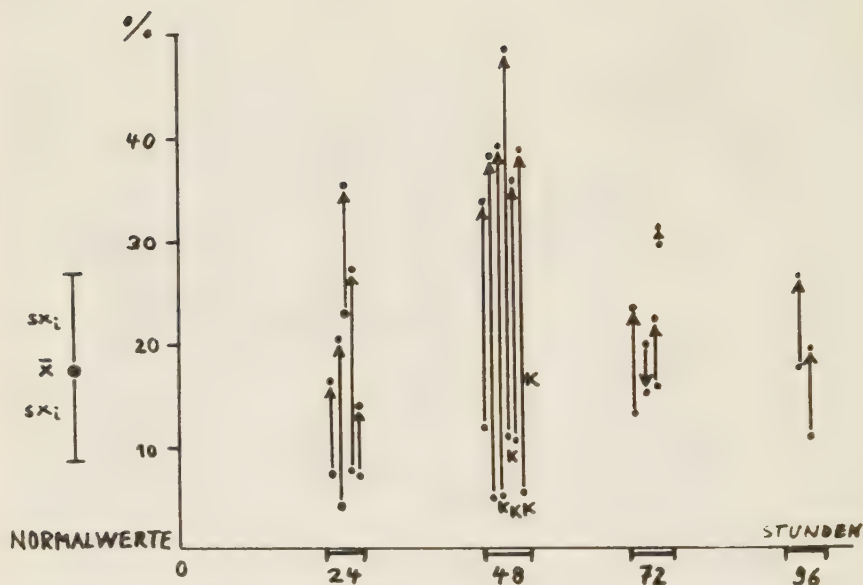


Abbildung 10. VERÄNDERUNGEN DES ESTERQUOTIENTEN IN DER RESTLEBER
NACH TEILHEPATEKTOMIE.

Die Pfeile verbinden den aus dem ektomierten Leberanteil gewonnenen Ausgangswert mit dem aus der Restleber desselben Tieres ermittelten Wert. Die Spitze des Pfeiles weist dabei auf den in der Restleber nach der entsprechenden Versuchszeit gefundenen Wert. In der Darstellung sind die 48-Stunden-Kontrollwerte enthalten (K).

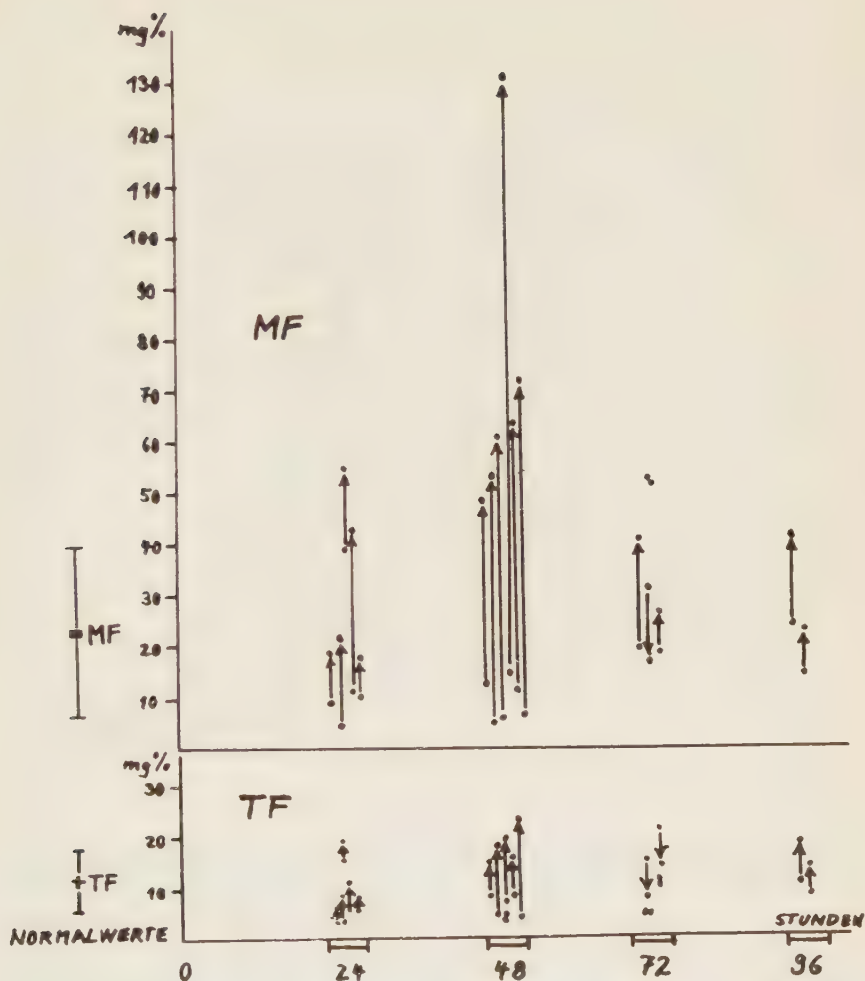


Abbildung 11. VERÄNDERUNGEN DER TF-UND MF-FRAKTION (mg %) IN DER RESTLEBER NACH TEILHEPATEKTOMIE.

Zur Art der Darstellung siehe Legende zu Abbildung 10.

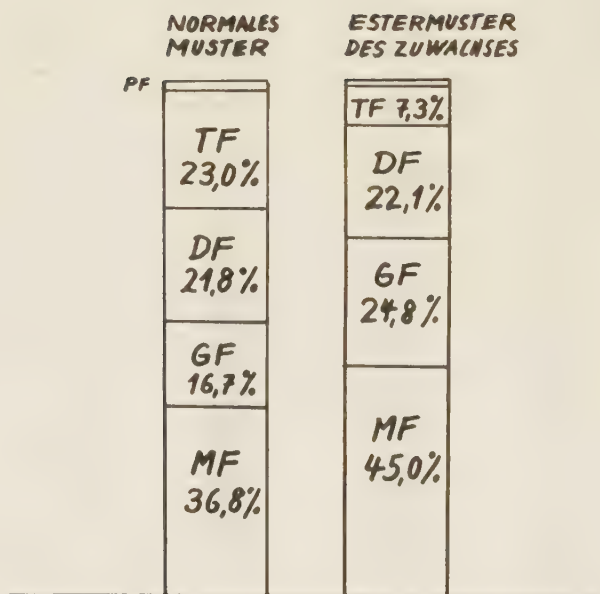


Abbildung 12. PROZENTUALE VERTEILUNG DER VERSCHIEDENEN ESTERFRAKTIONEN AUF DEN AM 48-STUNDEN-PUNKT NACH TEILHEPATEKTOMIE IN DER RESTLEBER ERREICHTEN GESAMTESTERZUWACHS.

Zuwachs=Differenz zwischen dem 48 Stunden-Mittelwert (mg %) und dem Mittelwert (mg %) der ektomierten Leberanteile. 48-Stunden-Zuwachs der gesamten Ester = 100 %. (Siehe auch Erläuterung im Text) Zum Vergleich ist das Estermuster in normalen Lebern dargestellt.

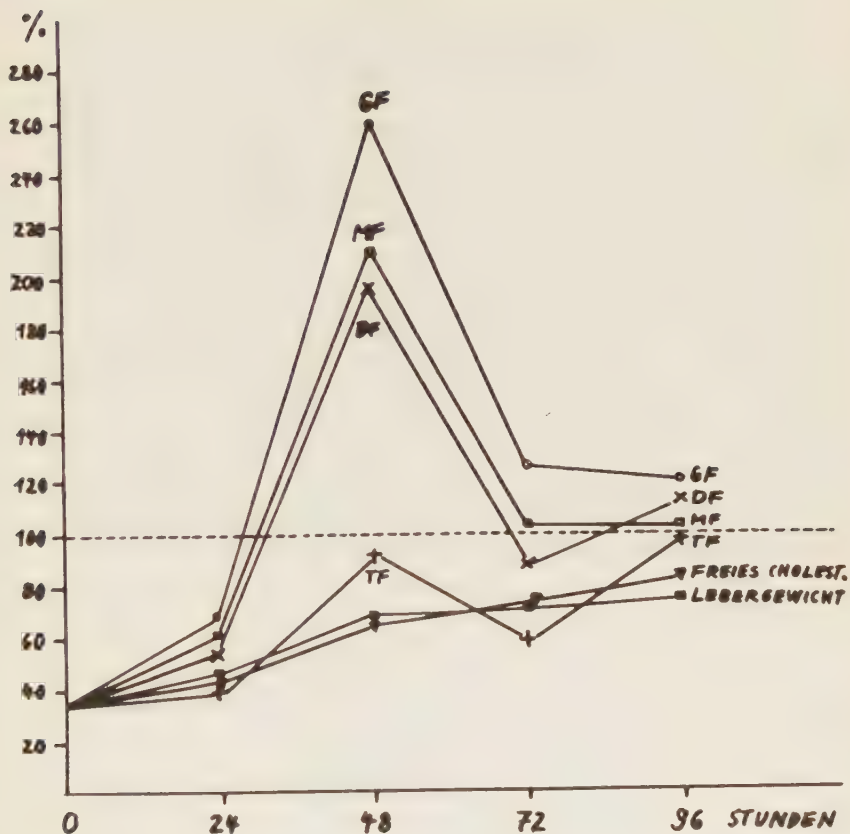


Abbildung 13. GESAMTMENGEN DER VERSCHIEDENEN ESTERFRAKTIONEN, DES FREIEN CHOLESTERINS UND DES VORHANDENEN LEBERGEBEWES IN DER LEBER NACH TEILHEPATEKTOMIE IN PROZENTEN DER GESAMTMENGEN VON NORMALEN LEBERN (= 100 %).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Im Serum leberkranker Patienten ist neben dem lange bekannten "Cholesterinestersturz" wesentlich häufiger eine Abnahme insbesondere der Cholesterinester der mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu beobachten, wie erst mit Hilfe der modernen chromatographischen Methoden festgestellt werden konnte.

Die Genese dieser Veränderungen wurde in der vorliegenden Arbeit anhand von zwei tierexperimentellen Anordnungen untersucht: Mit Hilfe der Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung der Leber sowie der Teilhepatektomie ließen sich die erwähnten Befunde an der Ratte reproduzieren. Die Ergebnisse der Cholesterin- und Fettsäureanalysen in Serum und Leber wurden unter Benutzung der Literatur diskutiert und für die Deutung der Befunde an den Seren leberkranker Patienten sowie der Befunde an ebenfalls in dieser Arbeit untersuchten pathologischen menschlichen Lebern herangezogen.

L I T E R A T U R

- 1) ALLIARD, C., G. DE LAMIRANDE and A. CANTERO:
Mitochondrial population of mammalian cells.
II. Cancer Res. 12 (1952), 580
- 2) BADE, E.G. and J.M. ELLANOS:
Variation in the mitotic activity of the
liver during the second day of posthepatec-
tomy regeneration.
Naturwissenschaften 50 (1963), 693
- 3) BENNET, J.R.:
The esterification of cholesterol by rat-
liver preparations.
Biochim.Biophys. Acta 70 (1963), 465
- 4) BLOMSTRAND, R. and O. DAHLBÄCK:
The fatty acid composition of human thoracic
duct lymph lipids.
J.clin.Invest. 39 (1960), 1185
- 5) BOWERS, C.Y., J.E. MULDER, J.G. HAMILTON and O.N. MILLER:
An abnormal serum cholesterol ester fatty
acid pattern in liver disease.
J.clin.Invest. 40 (1961), 1025
- 6) BRODY, T.H. and D.N. CALVERT:
Release of catecholamines from the adrenal
medulla by CCl₄.
Amer.J.Phys. 198 (1960), 682
- 7) BROTH, N., W.J. LOSSOW and J.L. CHAIKOFF:
In vitro uptake and hydrolysis by rat tissues
of cholesteroles of a very low density
chyle Lipoprotein fraction.
J.Lipid.Res. 5 (1964), 63
- 8) BYRON, J.E., W.A. WOOD and C.R. TREADWELL:
Cholesterol esterases, V. A cholesterol
esterase of rat liver.
J.Biol.Chem. 205 (1953), 483
- 9) CHAIKOFF, J.L., B. BLOOM, M.D. SIPERSTEIN, J.Y. KIYASU,
W.O. REINHARDT, W.G. DAUBEN and J.F. EASTHAM:
¹⁴C-Cholesterol. I. Lymphatic transport of
absorbed Cholesterol-4-¹⁴C.
J.Biol.Chem. 194 (1952), 407
- 10) CHALVARDJIAN, A.M.:
Fatty acids of brown and yellow fat in rats.
Biochem.J. 90 (1964), 518

- 11) CHANUTIN, A. and E.C. GJESSING:
The effect of partial hepatectomy, thermal injury and S-Chloroethyl vesicants on the lipides of plasma and plasma fractions of rats.
J.Biol.Chem. 178 (1949), 1
- 12) COHRS, P., R. JAFFE, H. MEESSEN:
(Hrsg.) Pathologie der Laboratoriumstiere.
(Springer, Berl.-Gött.-Hdbg. 1958)
- 13) COOK, R.P. (Edit.):
Cholesterol, p. 151 - 153
(Acad. press inc. publ. New York 1958)
- 14) DEMLING, L.: Neues aus dem Gebiete der Hepatologie.
In: Leber, Haut und Skelett
3. Lebertagung der Sozialmediziner,
Bad Mergentheim, 1963, Hrsg. L. Wannagat
(Georg Thieme 1964)
- 15) DIANZANI, M.U.:
The content of Adenosin polyphosphates in fatty livers.
Biochem.J. 65, (1957), 116
- 16) DOLE, U.P., A.T. JAMES, J.P.W. WEBB, M.A. RIZACK and M.F. STURMAN:
The fatty acid patterns of plasma lipids during alimentary lipemia.
J.clin.Invest. 38 (1959), 1544
- 17) EBERHAGEN, D.:
Mikroverfahren zur Gewinnung der Fettsäuremethylester aus komplexen Lipoiden.
Z.analyt.Chem. 212 (1965), 230
- 18) EPSTEIN, E.Z.:
Cholesterol of the blood plasma in hepatic and biliary diseases.
Arch.int.Med. 50 (1932), 203
- 19) FEIGELSON, E.B., W.W. PFAFF, A. KARMEN and D. STEINBERG:
The role of plasma free fatty acids in development of fatty liver.
J.clin.Invest. 40 (1961), 2171
- 20) FEIGL, J.: Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie, III. Fette und Lipide des Blutes.
Biochem.Z. 86 (1918), 1
- 21) FRIEDMAN, M., S.O. BYERS and B. GUNNING:
Observations concerning production and excretion of cholesterol in mammals.
VIII. Fate of injected cholesterol in the animal body.
Amer.J.Phys. 172 (1953), 309

- 22) FRIEDMAN, M. and S.O. BYERS:
Observations concerning the production and excretion of cholesterol in mammals. XVI. The relationship of the liver to the content and control of plasma cholesterol esters.
J.clin.Invest. 34 (1955), 1369
- 23) FRÖLICHER, E. und H. SÜLLMANN:
Die Veresterung von Cholesterin bei der Resorption aus dem Darm.
Biochem.Z. 274 (1934), 21
- 24) GLOMSET, J.A., F. PARKER, M. TJADEN and R.H. WILLIAMS:
The esterification in vitro of free cholesterol in human and rat plasma.
Biochim.Biophys.Acta 58 (1962), 398
- 25) GLOMSET, J.A.:
The mechanism of the plasma cholesterol esterification reaction: Plasma fatty acid transferase.
Biochim.Biophys.Acta 65 (1962), 128
- 26) GOODMAN, DeW.S.:
The metabolism of chylomicron cholesterol ester in the rat.
J.clin.Invest. 41 (1962), 1886
- 27) GOODMAN, DeW.S., D. DEYKIN and T. SHIRATORI:
The formation of cholesterol esters with rat liver enzymes.
J.Biol.Chem. 239 (1964), 1335
- 28) GOODMAN, DeW.S. and T. SHIRATORI:
In vivo turnover of different cholesterol esters in rat liver and plasma.
J.Lipid Res. 5 (1964), 578
- 29) GRIMMER, G., A. GLASER, H. OERTEL, K.D. VOIGT und M. APOSTOLAKIS:
Vergleich der Fettsäurezusammensetzung der Cholesterinester, Triglyceride, Phosphatide und freien Fettsäuren in Blut und Lymphe von Ratten. (Hoppe Seyler's)
Z.phys.Chem. 333 (1963), 232
- 30) HAFT, D.E., P.S. ROHEIM, A. WHITE and H.A. EDER:
Plasma Lipoprotein metabolism in perfused rat livers. I. Protein synthesis and entry into the plasma.
J.clin.Invest. 41 (1962), 842

- 31) HARKNESS, R.D.:
Changes in the liver of the rat after
partial hepatectomy.
J. Physiol. 117 (1952), 267
- 32) HARPER, P.V. Jr., W.B. NEAL Jr. and G.R. HLAVACEK:
Lipid synthesis and transport in the dog.
Metabolism 2 (1953), 69
- 33) HARTROFT, W.St.:
Experimental reproduction of human hepatic
disease.
In: Popper, Schaffner: Progress in liver
diseases. (New York and London 1961)
- 34) HAVEL, R.J., H.A. EDER and F.H. BRAGDON:
The distribution and chemical composition
of ultracentrifugally lipoproteins in human
serum.
J. clin. Invest. 34 (1955), 1345
- 35) HILLYARD, L.A., C. ENTENMAN, H. FEINBERG and J.L. CHAIKOFF:
Lipide and protein composition of four
fractions accounting for total serum
lipoproteins.
J. Biol. Chem. 214 (1955), 79
- 36) HIMSWORTH, H.P.:
Lectures on the liver and its diseases.
(Cambridge, Harvard Univ. press 1950)
- 37) HIRSCH, J., J.W. FARQUHAR, E.H. AHRENS, M.L. PETERSON
and W. STOFFEL:
Studies of adipose tissue in man.
Amer. J. clin. Nutr. 8 (1960), 499
- 38) HORNING, M.G., M.J. EARLE and H.M. MALING:
Changes in fatty acid composition of liver
lipides induced by carbon tetrachloride
and ethionine.
Biochim. Biophys. Acta 56 (1962), 175
- 39) JAMES, A.T. and A.J.P. MARTIN:
Gas-Liquid partition Chromatographie: the
separation and Micro-estimation of volatile
fatty acids from formic acid to dodecanoic
acid.
Biochem. J. 50 (1952), 679
- 40) JAMES, A.T. and A.J.P. MARTIN:
Gas-Liquid chromatographie. The separation
and identification of the methyl esters of
saturated and unsaturated acids from for-
mic acid to n-octodecanoic acid.
Biochem. J. 63 (1956), 144

- 41) KARMEN, A., M. WHYTE and DeW. S. GOODMAN:
Fatty acid esterification and chylomicron formation during fat absorption:
1. Triglycerides and cholesterol esters.
J. Lipid. Res. 4 (1963), 312
- 42) KLENK, E.:
Über die Bildung der C₂₀- und C₂₂-Polyen-
fettsäuren im Tierkörper.
Naturwissenschaften 41 (1954), 68
- 43) KLENK, E.:
Chemie und Stoffwechsel der Polyen-
fettsäuren.
Experientia 17 (1961), 199
- 44) KLENK, E. und W. KAHLKE:
Über das Vorkommen der 3.7.11.15-Tetra-
methylhexadecansäure (Phytansäure) in den
Cholesterinestern und anderen Lipoid-
fraktionen der Organe bei einem Krank-
heitsfall unbekannter Genese (Verdacht
auf Heredopathia atactica polyneuriti-
formis (Refsum-Syndrom)).
(Hoppe Seyler's) Z. physiol. Chem. 333
(1963), 133
- 45) KNEDEL, M.:
Beziehungen zwischen Ultrastruktur und
Biochemie der Leberzelle.
In: Leber, Haut und Skelett. 3. Leber-
tagung der Sozialmediziner, Bad Mergent-
heim 1963. Hrsg. L. Wannagat
(Georg-Thieme 1964)
- 46) KRUT, L. H. and B. BRONTE-STEWART:
The fatty acids of human depot fat.
J. Lipid Res. 5 (1964), 343
- 47) LINDGREN, F. T., A. V. NICHOLS and R. D. WILLS:
Fatty acid distributions in serum Lipids
and serum Lipoproteins.
Amer. J. clin. Nutr. 9 (1961), 13
- 48) LOSSOW, W. J., R. H. MIGLIORINI, N. BROTH and J. L. CHAIKOFF:
Effect of total exclusion of the exocrine
pancreas in the rat upon in vitro ester-
ification of ¹⁴C-labeled cholesterol by
the intestine and upon lymphatic absorp-
tion of ¹⁴C-labeled cholesterol.
J. Lipid Res. 5 (1964), 198
- 49) MALING, H. M., M. G. HORNING, W. M. BUTLER Jr., B. HIGHMAN
and B. B. BRODIE:
Triglyceride deposition in rat liver
through derangement of fat transport
by various chemical agents.
Fed. Proc. 19 (1960), 229

- 50) MALING, H.M., A. FRANK and M.G. HORNING:
Effect of carbon tetrachloride on hepatic synthesis and release of triglycerides.
Biochim.Biophys.Acta 64 (1962), 540
- 51) MAN, E.B., B.L. KARTIN, ST.H. DURLACHER and J.P. PETERS:
The Lipids of serum and liver in patients with hepatic diseases.
J.clin.Invest. 24 (1945), 623
- 52) MARKEES, S.:
Der Einfluß der experimentellen Leberschädigung auf Gesamtfett und ungesättigte Fettsäuren in Serum und Leber.
Experientia 20 (1964), 50
- 53) MARSH, J.B.:
The incorporation of amino acids into soluble lipoproteins by cell-free preparations from rat liver.
J.Biol.Chem. 238 (1963), 1752
- 54) MEAD, J.F., G. STEINBERG and D.R. HOWTON:
Metabolism of essential fatty acids. Incorporation of acetate into arachidonic acid.
J.Biol.Chem. 205 (1953), 683
- 55) MEAD, J.F., W.H. SLATON Jr. and A.B. DECKER:
Metabolism of the essential fatty acids (II).
J.Biol.Chem. 218 (1956), 401
- 56) MÖLBERT, E.:
Das elektronenmikroskopische Bild der Leberparenchymzelle nach histotoxischer Hypoxydose.
Beitr. path. Anat. allg. Path. 118 (1957), 203
- 57) NIEFT, M.L. and H.J. DEUEL Jr.:
Studies on cholesterol esterases. I. Enzyme systems in rat tissues.
J.Biol.Chem. 177 (1949), 143
- 58) NOVIKOFF, A.B. and V.R. POTTER:
Biochemical studies on regenerating liver.
J.Biol.Chem. 173 (1948), 223
- 59) NUNN, L.Ch.A. and I. SMEDLEY-MACLEAN:
The nature of the fatty acids stored by the liver in the fat-deficiency disease of rats.
Biochem.J. 32 (1938), 2178
- 60) PETZOLD, H.:
Die Einwirkung des "Lipocaic-Faktors" auf einige Gewebsenzyme der Rattenleber vor und nach partieller Hepatektomie.
Wiss.Beiblatt Nr.33 Mat.Med.Nordm. 1958

- 61) PEZOLD, F.A.: Lipid- und Lipoproteiduntersuchungen an Seren und Ultrazentrifugaten von Lebercirrhosen.
Dtsch.Arch.klin.Med. 204 (1957), 162
- 62) PEZOLD, F.A.: Lipide und Lipoproteide im Blutplasma.
(Springer, Berl.-, Gött.-, Hdbg. 1961)
- 63) PHILLIPS, G.B.: The Lipid composition of serum in patients with liver disease.
J.clin.Invest. 39 (1960), 1639
- 64) POGGI, M. and N.R. DI LUZIO:
The role of liver and adipose tissue in the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver.
J.Lipid Res. 5 (1964), 437
- 65) POLLI, E. und G. RATTI:
Die Fettfraktionen in pathologischen Lebern.
Biochem.Z. 321 (1950), 166
- 66) POPPER, H. und F. SCHAFFNER:
Die Leber. Struktur und Funktion.
(Georg Thieme, 1961)
- 67) POPPER, H. and F. SCHAFFNER:
Response of the liver to injury.
In: Popper, Schaffner: Progress in liver diseases (1961)
- 68) RADDING, CH.M. and D. STEINBERG:
Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins by rat liver slices.
J.clin.Invest. 39 (1960), 1560
- 69) RAPPORT, M.M. and N. ALONZO:
Photometric determination of fatty acid ester groups in phospholipides.
J.Biol.Chem. 217 (1955), 193
- 70) RECKNAGEL, R.O. and B. LOMBARDI:
Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis of carbon tetrachloride fat accumulation.
J.Biol.Chem. 236 (1961), 564
- 71) ROHEIM, P.S., D.E. HAFT, L.I. GIDEZ, A. WHITE and H.A. EDER:
Plasma Lipoprotein metabolism in perfused rat livers. II. Transfer of free and esterified cholesterol into the plasma.
J.clin.Invest. 42 (1963), 1277

- 72) ROSIN, L.: Untersuchungen über die Zuverlässigkeit der Cholesterinbestimmung mit Hilfe der Lifschütz'schen Reaktion.
Inauguraldissertation München 1963
- 73) SCHOTZ, M.C., N. BAKER and M.N. CHAVEZ:
Effect of carbon tetrachloride ingestion on liver and plasma triglyceride turnover rates.
J.Lipid Res. 5 (1964), 569
- 74) SCHÖN, H., U. KRAUSE und K. ELSTER:
Das Fettsäuremuster der menschlichen Leber im Zustand der Verfettung.
Klin.Wschr. 41 (1963), 743
- 75) SCHÖN, H.: Fettstoffwechseluntersuchungen bei Patienten mit Leberverfettung.
In: Leber, Haut und Skelett. 3. Leber-tagung der Sozialmediziner, Bad Mergentheim 1963.
Hrsg. L. Wannagat. (Georg Thieme 1964)
- 76) SCHNADE, W., E. BÖHLE, R. BIEGLER, R. TEICKE und B. ULLRICH:
Gaschromatographische Untersuchungen der Serumfettsäuren des Menschen. III. Mitteilung.
Klin.Wschr. 38 (1960), 739
- 77) SEAKINS, A. and D.S. ROBINSON:
The effect of the administration of carbon tetrachloride on the formation of plasma lipoproteins in the rat.
Biochem.J. 86 (1963), 401
- 78) SECKFORT, H., W. BUSANNY-CASPARI und E. ANDRES:
Die Serumlipide unter besonderer Berücksichtigung des Plasmalogens. IX. Mitteilung.
Klin.Wschr. 36 (1958), 434
- 79) SIPERSTEIN, M.D. and M.J. GUEST:
Studies on the homeostatic control of cholesterol synthesis.
J.clin.Invest. 38 (1959), 1043
- 80) SPERRY, W.M.: Cholesterol esterase in blood.
J.Biol.Chem. 111 (1935), 467
- 81) SPERRY, W.M. and F.C. BRAND:
A study of cholesterol esterase in liver and brain.
J.Biol.Chem. 137 (1941), 377
- 82) SPERRY, W.M.: Lipide Analysis.
In: Methods of biochemical Analysis, Vol. II p. 83 (pp. 106, 107) ed. by D. GLICK (Interscience Publ.Inc., New York 1955)

- 83) STAHL,E.: Dünnschicht-Chromatographie.
 (Springer, Berl.-,Gött.-,Hdbg. 1962)
- 84) SUNZEL,H., A. MARTINSSON and B. HOOD:
 The lipid content of the human liver.
 Metabolism 13 (1964), 1469
- 85) SWELL,L., J.E. BYRON and C.R. TREADWELL:
 Cholesterol esterases. IV. Cholesterol
 esterase of rat intestinal mucosa.
 J.Biol.Chem. 186 (1950), 543
- 86) SWELL,L., E.C.TROUT Jr., H.FIELD Jr. and C.R.TREADWELL:
 The role of lymph cholesterol in the
 regulation of endogenous cholesterol and
 cholesterol ester synthesis.
 J.Biol.Chem. 230 (1958), 631
- 87) SWELL,L., M.D. LAW, H. FIELD Jr. and C.R. TREADWELL:
 Cholesterol ester fatty acids in serum and
 liver of normal and lymphfistula rats.
 J.Biol.Chem. 235 (1960), 1960
- 88) TAKAHASHI,Y. and K. TANAKA:
 Gas-chromatographic analysis of the fatty
 acid composition of human fatty liver.
 J.Biochem. 49 (1961), 713
- 89) THANNHAUSER,S.J. und H. SCHABER:
 Über die Beziehungen des Gleichgewichtes
 Cholesterin und Cholesterinester im Blut
 und Serum zur Leberfunktion.
 Klin.Wschr. 5 (1926), 252
- 90) TSUBOI,K.K., R.E. STOWELL and C.S. LEE:
 Chemical alterations induced in mouse
 liver following a single feeding of
 carbon tetrachloride.
 Cancer Res. 11 (1951), 87
- 91) TSUBOI,K.K. and R.E. STOWELL:
 Enzyme alterations associated with mouse
 liver degeneration and regeneration after
 single carbon tetrachloride feeding.
 Cancer Res. 11 (1951), 221
- 92) TURNER,K.B., G.H. McCORMACK Jr. and A. RICHARDS:
 The cholesterol-esterifying enzyme of
 human serum. 1. In liver disease.
 J.clin.Invest. 32 (1953), 801
- 93) WEICKER,H.: Adsorptionschromatographische Unter-
 suchung von Serum-Lipiden auf Kieselgel-
 platten.
 Klin.Wschr. 37 (1959), 763

- 94) ZAK, B., R.C. DICKENMAN, E.G. WHITE, H. BURNETT and P.J. CHERNEY:
Rapid estimation of free and total cholesterol.
Amer.J.clin.Path. 24 (1954), 1307
- 95) ZIEVE, L.:
Studies of liver function tests.
III. Dependence of percentage cholesterol esters upon the degree of jaundice.
J.lab.clin.Med. 42 (1953), 134
- 96) ZÖLLNER, N.:
Zur Struktur der Lipoproteine.
Dtsch.med.Wschr. 83 (1958), 448
- 97) ZÖLLNER, N. und K. KIRSCH:
Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipide.
Z.ges.exp.Med. 134 (1960), 10
- 98) ZÖLLNER, N., K. KIRSCH und G. AMIN:
Über die chromatographische Trennung der Cholesterinester des Plasmas.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 66 (1960), 677
- 99) ZÖLLNER, N. und G. WOLFRAM:
Über die Zusammensetzung der Cholesterinester bei einigen Leberkrankheiten.
Klin.Wschr. 39 (1961), 817
- 100) ZÖLLNER, N., G. WOLFRAM und G. AMIN:
Über die quantitative Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen der Cholesterinester.
Klin.Wschr. 40 (1962), 273
- 101) ZÖLLNER, N. und G. WOLFRAM:
Untersuchungen über die Dünnschichtchromatographie von Lipoiden.
Klin.Wschr. 40 (1962), 1098
- 102) ZÖLLNER, N. und G. WOLFRAM:
Dünnschichtchromatographische Systeme zur Trennung der Plasmalipide.
Klin.Wschr. 40 (1962), 1101
- 103) ZÖLLNER, N.:
Untersuchungen über das Verhalten der Plasmalipide bei idiopathischer Hypercholesterinämie unter besonderer Berücksichtigung der Cholesterinester.
Z.klin.Chem. 1 (1963), 18
- 104) ZÖLLNER, N.:
Die Cholesterinester des Plasmas.
Dtsch.med.Wschr. 89 (1964), 731

- 105) ZÖLLNER, N. und D. EBERHAGEN (Hrsg.):
Untersuchung und Bestimmung der
Lipoide im Blut.
(Springer, Berlin-Heidelberg-
New York 1965)
- 106) ZÖLLNER, N. und D. EBERHAGEN:
Untersuchungen über Stoffwechsel und
klinische Bedeutung der mehrfach un-
gesättigten Fettsäuren.
Med.Klin. 60 (1965), 1192

Herrn Professor Dr. N. ZÖLLNER möchte ich an dieser Stelle danken für die Überlassung des Themas und die wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Bearbeitung.

Fräulein K. KIRSCH danke ich besonders für die technische Unterstützung.

Lebenslauf

Am 22. 1. 1942 wurde ich als Sohn des Lehrers Julius Wittorf und seiner Ehefrau Anna in Lilbeck geboren.

Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich die altsprachliche Abteilung des Katharineums zu Lilbeck, wo ich 1961 das Abitur ablegte.

Die fünf Semester des vorklinischen Medizinstudiums verbrachte ich an der Universität Tübingen, die sechs klinischen Semester studierte ich in München, wo ich am 15. 12. 1966 das medizinische Staatsexamen mit der Note "sehr gut" bestand.

